

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de



TESIS DOCTORAL

**Alteraciones de actividades enzimáticas relacionadas con
sistemas neurotransmisores colimergico y glutamatergico en
SNC de ratas tratadas crónicamente con neurolepticos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Pilar Barragán Morales

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

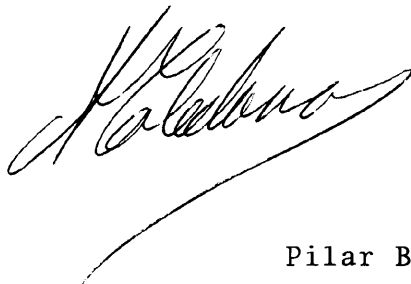
Facultad de Ciencias Quimicas

"ALTERACIONES DE ACTIVIDADES ENZIMATICAS RELACIONADAS CON
SISTEMAS NEUROTRANSMISORES COLINERGICO Y GLUTAMATERGICO
EN SNC DE RATAS TRATADAS CRONICAMENTE CON NEUROLEPTICOS"

Trabajo presentado por PILAR BARRAGAN MORALES
para optar al Grado de Licenciado en Ciencias
Quimicas.

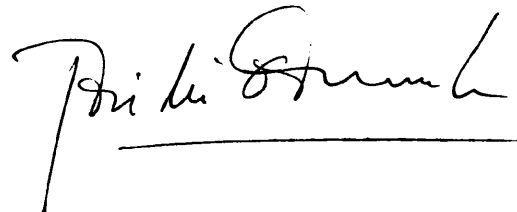
Vº Bº

Dr. Adolfo Toledano Gasca

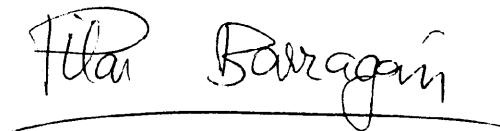


Vº Bº

Prof. Jose Maria Odriozola



Pilar Barragan Morales.



R.39206

A mi padre

AGRADECIMIENTOS

=====

Deseo expresar mi profundo agradecimiento a:

Dr. Adolfo Toledano Gasca

Dra. Inés Moradillo Larios

Dr. Miguel Angel Barca Barca

Dra. M^o Angeles Lazcano Camarero

Dra. Maria Luisa Bentura Remacha

Dr. Benjamín Fernandez Ruiz

Dr. Ricardo Martinez Rodriguez

M^o José Chulia

Aurora Valilla Aranda

Angelita Simón Aguilar

Dr. Jose Maria Odriozola

Jose Luis Diaz Devita y Jesús Juan

sin cuya generosa colaboración no hubiera sido posible la
realización de este trabajo.

INDICE
=====

PARTE TEORICA
=====

Pag.

1.- SISTEMA NERVIOSO

1.1.- ORGANIZACION Y FUNCION DEL SISTEMA NERVIOSO.....	1
1.1.1.- REGIONES MORFOFUNCIONALES DEL SNC.....	2
1.2.- SISTEMAS NEUROTRASMISORES EN SNC.....	10
1.2.1.- AMINAS, FUNCION Y LOCALIZACION.....	11
1.2.2.- SISTEMAS NEUROTRASMISORES COLINERGICOS: FUNCION Y LOCALIZACION.....	16
1.2.3.- SISTEMAS AMINOACIDERGICOS: FUNCION Y LOCALIZACION	20
1.3.- RECEPTORES	26
1.3.1.- RECEPTORES NORADRENERGICOS.....	26
1.3.2.- RECEPTORES DOPAMINERGICOS.....	27
1.3.3.- RECEPTORES SEROTONINERGICOS.....	28
1.3.4.- RECEPTORES COLINERGICOS	29
1.3.5.- RECEPTORES AMINOACIDERGICOS	32

2.- NEUROLEPTICOS

2.1.- TIPOS DE NEUROLEPTICOS	36
2.2.- MECANISMO DE ACCION DE LOS NEUROLEPTICOS.....	37
2.2.1.- ACCION SOBRE NEUROTRASMISION DOPAMINERGICA....	37
2.2.1.1.- Alteraciones por tratamiento con neurolepticos sobre receptores de DA	37
1) Estudios electrofisiologicos.....	37
2) Estudios de sensibilidad.....	40

2.2.1.2.- Accion.de los neurolepticos sobre sintesis, catabolismo y dinámica de DA	44
2.2.2.- ACCIONES SOBRE NEUROTRASM. NORADRENERGICA...	48
2.2.3.- ACCIONES SOBRE NEUROTRASM. SEROTONINERGICA..	52
2.2.4.- ACCIONES SOBRE NEUROTRASM. COLINERGICA.....	54
2.2.5.- ACCIONES SOBRE NEUROTRASM. AMINOACIDERGICA..	58
2.3.- ALTERACIONES MORFOLOGICAS PRODUCIDAS POR LOS NEUROLEPTICOS	61
3.- FINES Y OBJETIVOS DEL TRABAJO.....	63

PARTE EXPERIMENTAL

=====

4.- MATERIALES Y METODOS

4.1.- MATERIAL BIOLOGICO.....	65
4.2.- METODOS BIOQUIMICOS.....	66
4.2.1.- OBTENCION Y PREPARACION DE MUESTRAS PARA ANALISIS BIOQUIMICO	66
4.2.2.- HOMOGENIZACION DEL TEJIDO	66
4.2.3.- SONICACION	67
4.2.4.- ENSAYOS ENZIMATICOS	68
4.2.4.1.- Determinación de GDH	68
4.2.4.2.- Determinación de oxNADH.....	68
4.2.4.3.- Determinación de SDH	69
4.2.4.4.- Determinación de AAT	70
4.2.4.5.- Determinación de AChE	71
4.2.4.6.- Determinación de MAO	71
4.2.5.- DETERMINACION DE PROTEINAS	73
4.2.6.- EXPRESION DE ACTIVIDADES ENZIMATICAS	73

4.3.- METODOS HISTOLOGICOS PARA M.E.	73
4.3.1.- OBTENCION Y PREPARACION DE MUESTRAS. FIJACION...	73
4.3.2.- POSTFIJACION.....	74
4.3.3.- INCLUSION	74
4.3.4.- OBSERVACION AL M.E. Y MICROFOTOGRAFIA	76
4.4.- ESTUDIOS ESTADISTICOS REALIZADOS	76

5.- RESULTADOS

5.1.- CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS ANIMALES TRATADOS CON CPZ Y HAL	77
5.1.1.- VARIACIONES PONDERALES EN ANIMALES SOMETIDOS A TRATAMIENTO	77
5.1.2.- VARIACIONES DE PESOS DE MUESTRAS Y CONTENIDO EN PROTEINAS DE LAS MISMAS.....	80
5.2.- ALTERACIONES BIOQUIMICAS	87
5.2.1.- VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN CEREBELO POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL.	87
5.2.1.1.- Variaciones de la act. enzimatica GDH.	87
5.2.1.2.- Variaciones de la act. enzimatica AAT.	87
5.2.1.3.- Variaciones de la act. enzimatica AChE	90
5.2.1.4.- Variaciones de la act. enzimática SDH	92
5.2.1.5.- Variaciones de la act. enzimática oxNADH	95
5.2.1.6.- Variaciones de la act. enzimática MAO.	95
5.2.2.- VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN TELENCEFALO POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL.....	96
5.2.2.1.- Variaciones de la act. enzimatica GDH	96
5.2.2.2.- Variaciones de la act. enzimatica AAT	97
5.2.2.3.- Variaciones de la act. enzimatica AChE	99

5.2.2.4.- Variaciones de la act. enzim. SDH	99
5.2.2.5.- Variaciones de la act. enzim. oxNADH	101
5.2.2.6.- Variaciones de la act. enzim. MAO...	103
5.2.3.- VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN TRONCOENCEFALO POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL.....	104
5.2.3.1.- Variaciones de la act. enzim. GDH...	104
5.2.3.2.- Variaciones de la act. enzim. AAT...	105
5.2.3.3.- Variaciones de la act. enzim. AChE...	107
5.2.3.4.- Variaciones de la act. enzim. SDH	107
5.2.3.5.- Variaciones de la act. enzim. oxNADH	109
5.2.3.6.- Variaciones de la act. enzim. MAO...	111
5.2.4.- VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN DIENCEFALO POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL	112
5.2.4.1.- Variaciones de la act. enzim. GDH ..	112
5.2.4.2.- Variaciones de la act. enzim. AAT...	114
5.2.4.3.- Variaciones de la act. enzim. AChE...	114
5.2.4.4.- Variaciones de la act. enzim. SDH ..	116
5.2.4.5.- Variaciones de la act. enzim. oxNADH	117
5.2.4.6.- Variaciones de la act. enzim. MAO...	119
5.3.- ATERACIONES MORFOLOGICAS	121

6.- DISCUSION

6.1.- COMENTARIOS GENERALES SOBRE LOS RESULTADOS.....	122
6.1.1.- VARIACIONES PONDERALES.....	122
6.1.2.- VARIACIONES EN EL PESO DE MUESTRAS Y CONTENI DO DE PROTEINAS.....	124

6.2.-	RESULTADOS BIOQUIMICOS.....	126
6.2.1.-	VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS	
	POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL	126
6.2.1.1.-	Variaciones de las actividades enzimaticas GDH y AAT.....	127
6.2.1.2.-	Variaciones de la act. enzim. AChE....	130
6.2.1.3.-	Variaciones de la act. enzim. MAO	132
6.2.1.4.-	Variaciones de la act. enzim. SDH y oxNADH	134
6.3.-	ALTERACIONES MORFOLOGICAS	136
7.-	RESUMEN	138
8.-	CONCLUSIONES	139
9.-	BIBLIOGRAFIA	140
10.-	FOTOGRAFIAS	179

ABREVIATURAS

=====

AAT	=	Aspartato amininotransferasa
ACh	=	Acetil colina
AChE	=	Acetil colinesterasa
Act	=	Actividad
α -KG	=	Alfa cetoglutarato
α -MT	=	Alfa metil tirosina
Asp	=	Aspartato
ATP	=	Adenosin trifosfato
Ca	=	Calcio
CAMP	=	Adenosin monofosfato ciclico
c.c.	=	Centímetros cúbicos
ChAT	=	Colin acetil transferasa
Cis	=	Cisteina
cm	=	Centímetros
CNK	=	Cianuro potásico
col.	=	Colaboradores
CPZ	=	Clorpromazina
DA	=	Dopamina
DCIP	=	2, 6, dicloro fenol indofenol
DFP	=	b- (1 metiletil) fosfofluoridato
D.O.	=	Densidad óptica
DOPAC	=	Acido dihidroxifenil acético
DTNB	=	5,5' ditiobis (2) nitrobenzoato
GABA	=	Acido γ -amino butírico
GABA-T	=	γ -amino butirico transaminasa
GAD	=	Glutamato decarboxilasa
GDH	=	Glutamato deshidrogenasa
GMP	=	Guanosin monofosfato
Glu	=	Glutamato
Gly	=	Glicina
HAL	=	Haloperidol
4-HOQ	=	4-Hidroxiquinoleina
5-HT	=	5-Hidroxitriptamina

Homo-Cis	= Homocisteina
HVA	= Acido homovanillico
i.p.	= Intraperitoneal
Kg	= Kilogramo
L.C.	= Locus coeruleus
DOPA	= L-3,4 dihidroxifenil alanina
MAO	= Monoamino oxidasa
MDH	= Malato deshidrogenasa
M.E.	= Microscopia electrónica
mg	= Miligramos
min	= Minutos
ml	= Mililitros
mm	= Milímetros
M.O.	= Microscopia óptica
m-RNA	= Acido Ribonucleico mensajero
NA	= Noradrenalina
NAD	= Nicotinamida adenin dinucleótido
NADH	= Nicotinamida adenin dinucleotido reducido
nm	= Nanómetros
6-OHDA	= 6-Hidroxidopamina
p. ej.	= por ejemplo
PMS	= Fenazina metosulfato
Pro	= Prolina
P/V	= peso / Volumen
PVA	= Polivinil alcohol
RNA	= Acido ribonucleico
r.p.m.	= Revoluciones por minuto
s.c.	= Subcutánea
SDH	= Succinato deshidrogenasa
seg	= Segundos
SN	= Sustancia negra
SNC	= Sistema nervioso central
Tau	= Taurina
t-RNA	= Acido ribonucleico de transferencia
VMT	= Area ventral tegmental

PARTE TEORICA
=====

1.- PARTE TEORICA =====

1.1.- ORGANIZACION Y FUNCION DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Las células específicas del tejido nervioso, se pueden agrupar en dos tipos principales: las células nerviosas o neuronas y las células neurogliales.

El tejido nervioso está diferenciado y adaptado específicamente para:

- percibir los estímulos o las modificaciones energéticas del medio interno o del medio externo, gracias a una serie de estructuras especializadas: los receptores;
- transmitir a los centros nerviosos las citadas informaciones de una manera codificada, que permite al organismo apreciar las características cualitativas, cuantitativas, espaciales y temporales de las mismas;
- elaborar en los centros nerviosos una respuesta consciente o inconsciente, simple o compleja;
- conducir dicha respuesta a una serie de órganos efectores, cuya actividad se verá así modificada, regulada y adaptada a las nuevas condiciones endógenas o exógenas.

El tejido nervioso está distribuido por la totalidad del organismo y organizado en un sistema: el sistema nervioso.

El sistema nervioso interviene en una serie de mecanismos de regulación y armonización del funcionamiento de los diferentes órganos. La transmisión a distancia de las informaciones requiere una organización espacial y estructural adecuada de las neuronas. De hecho, el cuerpo celular o pericarión de las neuronas, emite largas expansiones citoplasmáticas, las fibras nerviosas que son la mani-

festación anatómica de sus funciones de coordinación. Las neuronas, somas y prolongaciones, están arquitecturalmente organizadas.

A efectos de sistematización, el sistema nervioso se divide en dos partes morfofuncionales: el sistema nervioso central, constituido por el encéfalo y la médula espinal, y el sistema nervioso periférico, constituido por los nervios, los ganglios y las terminaciones nerviosas.

1.1.1. Regiones morfofuncionales del SNC (Esquema 1)

Aunque la estructura y la función están un tanto relacionadas, las funciones no están tan delimitadas anatómicamente como se pensó en un principio. El SNC funciona como un todo jerárquicamente organizado en la práctica totalidad de su actividad, aunque para nuestros estudios e investigaciones consideramos determinadas regiones, centros o circuitos. Las principales regiones o segmentos son:

Médula espinal. - Segmento del eje cerebro-espinal que se encuentra en el conducto vertebral o conducto raquídeo. Está constituida por una masa compacta de sustancia gris, rodeada a su vez por un manto de sustancia blanca. Puede funcionar como un órgano de reflectividad primaria, pero principalmente es el órgano de conexión entre los centros nerviosos encefálicos y los órganos subordinados del tronco y de los miembros.

Troncoencéfalo. - Es aquella porción del eje central del sistema nervioso que es prolongación de la médula espinal y que a su vez se continúa con el segmento diencefálico del cerebro. Se puede dividir en tres partes claramente delimitadas: a) bulbo raquídeo o médula oblongata, continuación directa de la médula espinal; b) la protuberancia

berancia o puente de Valorio y el mesencéfalo.

La imagen estructural del troncoencéfalo, es muy diferente a la de la médula espinal, ya que la sustancia gris se ha fragmentado y se ha esparcido entre la sustancia blanca, observándose al corte transversal, un gran número de poblaciones neuronales (nucleos), enclavados entre los haces de sustancia blanca. Algunos de los nucleos que podemos observar en los diferentes niveles son: En el nivel mesencefálico: el nucleo rojo; es la zona de conexión y control de los impulsos cerebelosos, palidarios y corticomotores, importante para el tono muscular, la posición corporal y la deambulación; la sustancia negra; esencialmente importante para los movimientos concomitantes involuntarios y el comienzo rápido de los movimientos. Ambos nucleos son importantes zonas de conexión en el sistema extrapiramidal.

En el nivel pónico: la cinta de Reil o lemnisco interno; consta de distintos componentes:

- tracto bulbotalámico (sensibilidad epicrítica)
- tracto espinotalámico (sensibilidad protopática; dolor, temperatura, sensación grosera de tacto)
- tracto espinotectal (reacción pupilar a la sensación dolorosa)
- fascículo ventral de la calota (sensibilidad protopática y epicrítica de la cara)
- fibras secundarias gustativas.

En el nivel bulbar, la superficie dorsal de la vía piramidal considerada como la vía de la motilidad voluntaria.

En el sector bulbo-pónico, la placa ventricular. Está constituida por pequeños nucleos de sustancia gris que representan el origen o la terminación real de diversos nervios craneales.

Ademas de estos nucleos ya citados, es importante hablar de la .formación reticular del troncoencéfalo o nucleo reticular de la calota.

La formación reticular es un conjunto de neuronas que no forman parte de los nucleos de origen y terminación de los nervios craneales ni de aquellos otros nucleos más específicos intercalados en las diversas vias motoras, sensitivas y cerebelosas que transitan por el troncoencéfalo. Sus neuronas están intimamente conexas entre sí formando una estructura compleja y multisináptica, que funciona como una totalidad. En cuanto a su ordenación , es preciso saber que pueden estar distribuidas difusamente a lo largo del tegmento o agruparse en nucleos más o menos definidos.

La formación reticular es una importante estación sináptica intercalada en múltiples reflejos de caracter suprasegmentario; además también interviene en funciones tan importantes como el control del nivel de la conciencia, el control del tono muscular, el aprendizaje, la regulación de los estados de animo, el estado de vigilia etc. Estos centros de neuronas con axones ramificados y difusos y dendritas estrelladas no polares, forman un gran centro rector ("isodendritic core"), al que nos referiremos repetidamente.

Cerebelo.- El cerebelo, enlazado por múltiples conexiones con la médula, el troncoencéfalo y la corteza cerebral, es el órgano regulador por excelencia, de forma que controla y ajusta la actividad motora voluntaria, el tono muscular y las reacciones necesarias para el mantenimiento de la postura y del equilibrio corporal. Snider (1952) ha demostrado que el cerebelo influye ademas sobre la actividad eléctrica de las areas sensitivas de la corteza cerebral, comportandose a este respecto como un modulador temporal de dichas =

areas de información. Consta de tres porciones: una central o vermis y dos expansiones laterales o hemisferios cerebelosos.

En cuanto a sus componentes estructurales, células y fibras, se disponen de modo que pueden distinguirse: una corteza o substancia gris, en la que predominan las neuronas, y una substancia blanca subyacente formada principalmente por fibras. En el espesor de esta substancia blanca existen además agrupaciones neuronales denominadas núcleos cerebelosos subcorticales: oliva cerebelosa (nucleus dentatus), núcleo emboliforme, el núcleo globoso y el núcleo fastigial.

La corteza cerebelosa está poblada de neuronas de diversa es tirpe que se disponen en las capas denominadas: molecular, de Purkinje y granular (ésta en contacto inmediato con la substancia blanca subyacente).

- Capa molecular: de densidad celular relativamente escasa. En ella radican las neuronas en cesto y estrelladas, ambas con prolongaciones que discurren dentro del propio estrato molecular.

- Capa de Purkinje: ocupada por las células de Purkinje y las arbo rizaciones dendríticas de las neuronas de Golgi cuyos somas se asien tan en el estrato más profundo; por lo demás estas arborizaciones rebasan los límites de la capa de Purkinje e invaden la capa mole cular.

- Capa granular: de densidad celular elevada; contiene neuronas de nomi nadas granos o células granulosas y neuronas de Golgi. A este nivel se encuentran los complicados dispositivos sinápticos denomi nados glomérulos cerebelosos.

La substancia blanca del cerebelo contiene fibras que pueden

proceder del cortex cerebeloso o bien dirigirse hacia el mismo. Las que proceden del cortex son los axones de las neuronas de Purkinje. Las que penetran en el cortex son las fibras musgosas y las fibras trepadoras.

Diencéfalo.- Es un conjunto de estructuras nerviosas situadas alrededor de una cavidad con forma de embudo aplastado en sentido transversal con el vértice dirigido hacia el receptáculo hipofisario de la silla turca (tercer ventrículo). Estas estructuras están ocultas en gran parte por la cara medial de ambos hemisferios cerebrales; entre las partes laterales del diencéfalo y el hemisferio correspondiente existe una extensa zona de fusión en la que resulta difícil establecer límites netos. Desde el techo hasta el vértice del embudo, el diencéfalo se puede dividir en cuatro capas superpuestas: epitálamo, tálamo dorsal, subtálamo o tálamo ventral e hipotálamo.

El epitálamo consta de las habénulas, que es un centro intermedio de conexión para las vías entre los centros olfatorios y el tronco cerebral, y la epífisis o glándula pineal, que es un órgano sensible a la luz que registra el cambio entre claridad y oscuridad, regula el cambio de pigmentación cutánea, influye sobre las modificaciones de las gónadas en los distintos periodos del año, etc.

El tálamo dorsal, es el centro de terminación de las vías sensitivas y sensoriales (sensibilidad cutánea, gustativa, optica, acustica y vías vestibulares). Por mediación de las fibras aferentes y eferentes está en conexión con la corteza cerebral.

El subtálamo contiene núcleos del sistema motor extrapiramidal (zona incierta, cuerpo subtalámico, globus pallidus) y puede considerarse como la zona motora del diencéfalo.

El hipotálamo constituye la capa más baja y el suelo del diencéfalo, a partir del cual se evagina la neurohipófisis. Es el centro más importante de regulación del sistema nervioso vegetativo. También es un importante centro nervioso incluido en el cerebro impulsivo y en el circuito de memorización. Participa en la expresión somática de las emociones y en el control de las constantes internas como son: la temperatura corporal, el metabolismo hidrosalino y la tasa salina de diversas hormonas antehipofisarias.

Telencéfalo. - Porción última del eje cerebro-espinal, cuando lo estudiamos en sentido ascendente. Está constituido por los hemisferios cerebrales que quedan separados entre sí por la profunda fisura interhemisférica o fisura sagital del cerebro. Está constituido por cuatro segmentos de los que algunos se desarrollan precozmente (componentes viejos), y otros, por el contrario, más tarde (componentes nuevos). Los cuatro segmentos son: paleopalio, estriado, neocortex, y arquicortex.

El paleopalio es el segmento más antiguo de los hemisferios. Forma su suelo y corresponde con el bulbo olfatorio y el paleocortex subsiguiente al cerebro olfatorio, rinencéfalo en sentido más estricto.

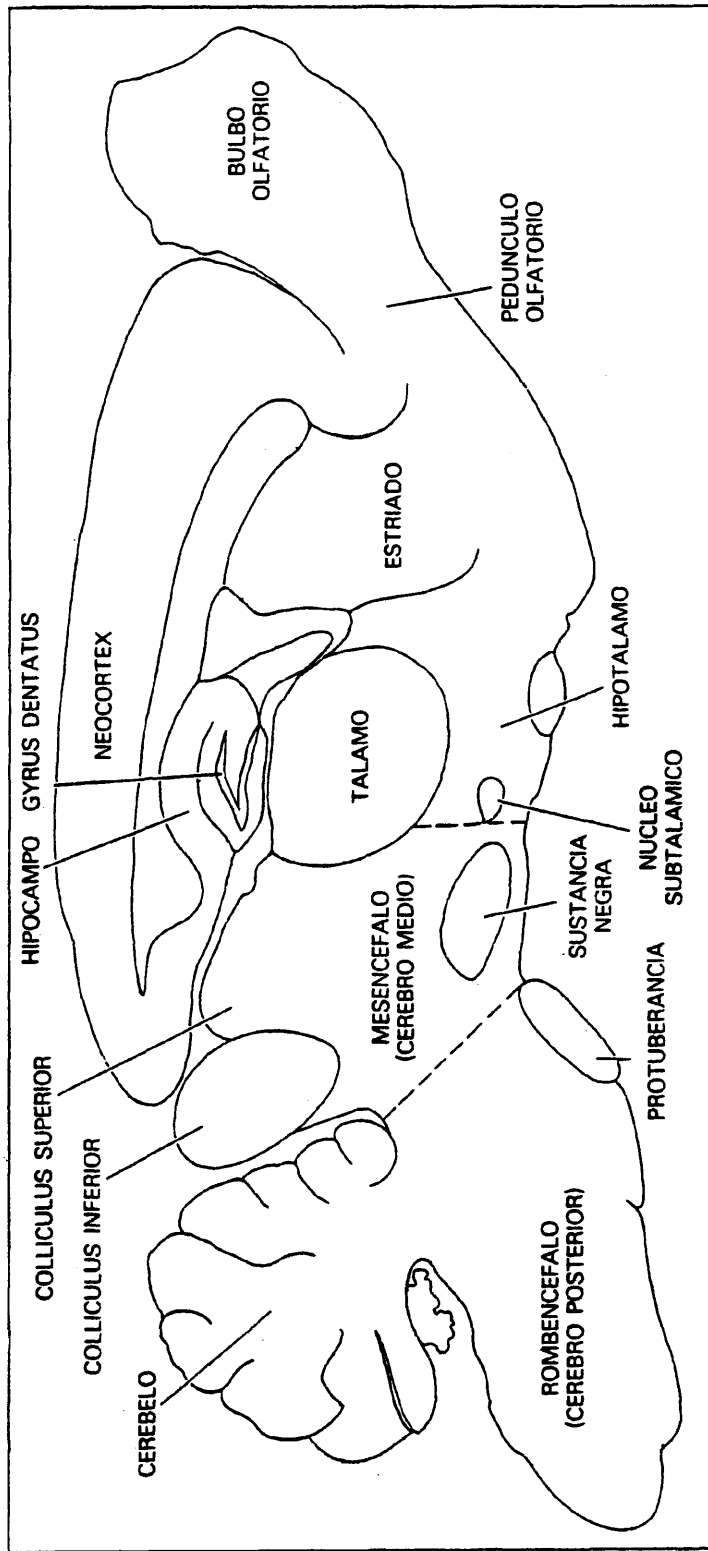
El estriado es también un segmento de la pared de los hemisfe^urios, aunque no aparece en la cara externa de los mismos. Se considera como la zona de conexión subcortical más alta del sistema motor extrapiramidal. Es un gran complejo gris que está dividido por la cápsula interna en dos segmentos: el nucleo caudado y el putamen.

El neocortex está situado en la cara externa de los hemisferios, se desarrolla muy tardíamente. Está dividido en seis capas: lámina molecular, lámina granulosa externa, lámina piramidal, lámina gra-

nulosa interna, lámina ganglionar y lámina multiforme. Aunque todas las zonas del neocortex pasan por un desarrollo análogo, se aprecian variaciones notables en las distintas regiones, de manera que se pueden distinguir un notable número de zonas estructuralmente distintas, las regiones corticales. Son: corteza sensitiva, auditiva, visual y motora.

El arquicortex es un componente antiguo que constituye la pared hemisférica interna. Su componente principal es el hipocampo. El hipocampo es un órgano de integración que por medio de sus conexiones con el hipotálamo, los núcleos del septum y la circumvalación del cuerpo calloso, influye sobre los fenómenos endocrino, visceral y emocional.

Entre la corteza cerebral y los núcleos grises existentes en la profundidad, se halla una capa ancha de sustancia blanca, la zona mielínica. Se trata de masas de fibras que parten de las neuronas de la corteza o se dirigen a la corteza y terminan en neuronas corticales. Se distinguen tres tipos de distintos sistemas de fibras: fibras de proyección, de asociación y de comisura. Las fibras de proyección constituyen una unión entre la corteza cerebral y los centros subcorticales, ya sea como sistemas ascendentes que terminan en la corteza, o como sistemas descendentes que de la corteza cerebral se dirigen a centros de situación más profunda. Las fibras de asociación constituyen conexiones entre las distintas regiones corticales. Finalmente, las fibras comisurales enlazan las cortezas de ambos hemisferios. En realidad, no son otra cosa que fibras de asociación interhemisféricas.



ESQUEMA 1.- Esquema del cerebro de mamíferos. Se ha dividido el cerebro en tres partes: Cerebro Posterior, Cerebro Medio y Cerebro Anterior. El cerebro posterior incluye el cerebelo y tronco cerebral. El cerebro medio comprende dos elevaciones conocidas como Colliculus superior e inferior. El cerebro anterior es mas complejo. Su parte externa es el hemisferio cerebral, y la capa superficial del mismo, dividida en circunvoluciones, constituye el cortex cerebral que comprende el Hipocampo, el Neocortex y el Area Olfativa. Dentro del hemisferio se encuentra la Amígdala y el Cuerpo Estriado, este último incluye el Globus Pallidus y el Estriado, y este a su vez el Núcleo Caudado y Putamen. El resto del cerebro anterior es el diencéfalo. Los dos tercios superiores constituyen el Tálamo (con numerosas subdivisiones) y el tercio inferior el Hipotálamo.

1.2. SISTEMAS NEUROTRANSMISORES EN EL S.N.C.

Los neurotransmisores son sustancias químicas que al "saltar" desde la membrana presináptica a la postsináptica de dos neuronas que forman una sinapsis, transmiten un impulso nervioso.

La identidad química de los neurotransmisores en un gran número de sinapsis no es conocida, particularmente en SNC. La lista de los posibles neurotransmisores es grande, e incluye las siguientes sustancias: acetilcolina, norepinefrina, dopamina, GABA, glutamato, glicina, 5-hidroxitriptamina e histamina. Aparte de estas sustancias, recientemente se han encontrado unos 30 péptidos (sustancia P, neurotensina, encefalina, péptido intestinal vasoactivo etc.), localizados en las neuronas farmacológicamente muy activas, causando inhibición y/o excitación de las mismas. (Estos péptidos neuroactivos están más o menos localizados en regiones concretas del cerebro y pueden estar implicados en la percepción del dolor, placer, sentimiento, emociones, etc.).

Los neurotransmisores se forman de diversa forma según su naturaleza. Las vesículas sinápticas pueden generarse: a) en el retículo liso endoplásmico del pericarion, a partir de cuyas cisternas se estrangulan las vesículas; b) en el aparato de Golgi y c) en la invaginación de la membrana de los botones sinápticos. El anabolismo, catabolismo y almacenamiento de las sustancias transmisoras pueden ser alterados por fármacos: en las neuronas puede originarse un exceso o defecto de transmisor que sería la causa de alteraciones motoras o psíquicas. Mediante ciertas sustancias (neurolépticos) se produce una acción tranquilizadora e inhibición; otras (aminas estimulantes) consiguen un estado de lucidez mayor, etc.

El punto de acción de los fármacos neurótrópos, es la forma-

ción, transporte o almacenamiento de las sustancias transmisoras. En general, los neurotransmisores que desempeñan un papel en las neuronas centrales, especialmente en las neuronas de la corteza cerebral, solo se conocen de un modo incompleto. Sin embargo, el avance de los métodos y técnicas de estudio de los últimos años, como las técnicas de tinción selectiva, autorradiográficas e inmunohistoquímicas, o el desarrollo de métodos electrofisiológicos, bioquímicos etc. sobre la distribución anatómica detallada de los distintos neurotransmisores en los circuitos neuronales del cerebro, han revelado que los transmisores no tienen una distribución difusa por todo el tejido cerebral, sino que se localizan en centros concretos y en vías concretas. Así mismo, estos estudios han llevado al conocimiento de diversas funciones en las que podrían estar implicados los neurotransmisores.

1.2.1. Aminas. Función y localización

En lo que se refiere a la función de las monoaminas, parece ser que la noradrenalina está implicada en el mantenimiento del estado de vigilia, en el mecanismo cerebral de la recompensa, en el reposo nocturno con sueño, y en la regulación del humor; la dopamina desempeña un papel esencial en el control de los movimientos complejos y en la regulación de las respuestas emotivas; y la serotonina interviene en la regulación de la temperatura, en la percepción sensorial y en la iniciación del reposo nocturno.

En lo que se refiere a la localización de las monoaminas en el tejido cerebral, las neuronas catecolaminérgicas (DA y NA) y serotoninérgicas (5-HT), forman las vías monosinápticas entre el tronco encefálico y el cortex cerebral. Las neuronas dopaminérgicas se concentran en las regiones del encéfalo medio conocidas como sustancia

nigra (SN) y tegmentum ventral (VMT) (Dahlstrom y Fuxe, 1964; Fallon y Moore 1978b; Lindvall y col. 1978).

Las neuronas que contienen noradrenalina (NA) se concentran en un pequeño grupo de células del tronco cerebral, el locus coeruleus (Lindvall y Bjorklund 1978), y las neuronas que contienen serotonina (5-HT) se concentran en un grupo de neuronas situado también en la región del tallo cerebral denominado núcleos del rafe (Anden y col. 1966; Conrad y col. 1974; Fuxe y Jonsson 1974; Lorens y Guldberg 1974; Bobiller y col. 1976; Palkovits y col. 1977; Azmitia y Segal 1978; Moore y col. 1978). A pesar del número de cuerpos celulares relativamente limitado en los núcleos del troncoencefalo (LC y rafe), las proyecciones de los sistemas que contienen NA (Nagai y col. 1981; Loughlin y col. 1982) y 5-HT (Jacobs y col. 1978; Van der Kooy y Hattori 1980; Köhler y Steinbusch 1982), inervan todo el cortex cerebral y se distribuyen por todas las capas corticales. Esto se lleva a cabo a través de una extensa colaterización axonal intracortical. Parte de las neuronas NA (Olson y Fuxe 1971; Ungerstedt 1971; Lindvall y Bjorklund 1974) y 5-HT (Van der Kooy y Kuypers 1979; Heimer y de Olmos 1980; Van der Kooy y Hattori 1980) se ramifican en el cortex y envían colaterales a regiones subcorticales. Las neuronas del nucleus coeruleus tienen más ampliamente distribuidas las arborizaciones axónicas. Parece posible que una neurona del LC pueda proyectar uni y bilateralmente a toda la extensión anteroposterior del neocortex, así como al tálamo, hipotálamo y cerebro (Ader y col. 1980; Room y col. 1981). Estas neuronas están así en una posición única para influenciar la actividad de muchos niveles del neuroeje, incluyendo el cortex cerebral. Sin embargo hay también una porción significativa de neuronas del LC y probablemente del rafe que tienen áreas de terminación menos extensas.

Por su parte las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas (originadas a nivel ventral tegmental y en la sustancia negra), que inervan el cortex cerebral, difieren en algunos aspectos de las neuronas NA y 5-HT:

- 1º) Estan topográficamente organizadas en mucha más extensión (Fallon y Moore 1978b), aunque recientes hallazgos sugieren también alguna topografía regional en los sistemas NA (Mason y Fibiger 1979) y 5-HT (Jacobs y col. 1978; Van der Kooy y Hattori 1980).
- 2º) Las neuronas dopaminérgicas tienen más restringidos los campos terminales en el cortex cerebral. Esto está bien ilustrado en el cortex prefrontal donde la inervación DA solapa estrechamente con el campo de proyección del nucleo talámico mediodorsal (Divac y col. 1975, 1978; Beckstead 1976; Berger y col. 1976).
- 3º) La distribución laminar de los terminales DA en un area dada del cortex es marcadamente diferente de los otros sistemas de fibras monoaminérgicas (Lewis y col. 1979; Lindvall y col. 1974, 1978; Berger y col. 1976).

La organización de las neuronas DA ascendentes es mucho más compleja que la originalmente sospechada. La clasificación inicial indicando la existencia de tres sistemas: mesocortical, mesolímbico y nigroestriatal no parece totalmente apropiada. Realmente se reconoció que distintos subsistemas DA son responsables de la inervación DA en areas corticales bien definidas, siendo también cierto para las areas mesolímbicas (Beckstead 1976; Simon y col. 1976a, 1977; Carter y Fibiger 1977; Emson y Koob 1978; Fallon y Moore 1978 a,b; Lindvall y col. 1978).. De otro modo, las células dopaminérgicas de la sustancia negra proyectan al cortex cingula , amígdala y estriado y las células DA del VMT también contribuyen a la inervación dopaminérgica estriatal. Estos subsistemas dopaminérgicos se pueden distinguir no solo por su origen en el complejo VMT-SN o por sus

campos de proyección, sino también por el tipo de célula DA que incluyan (forma del cuerpo celular y arborización dendrítica, aspecto de las fibras, presencia o no de axones colaterales, coexistencia de péptidos identificados, existencia o no de autorreceptores, etc.) (Phillipson 1979 a,b; Bannon y col. 1982 ; Hökfelt y col. 1980 a,b, 1983), por sus receptores aferentes específicos (Divac y col. 1978; Rose y Woolsey 1948; Leonard 1969, 1972; Krettek y Price 1977), y finalmente por su peculiar reactividad a tratamientos farmacológicos (Scattergood y col. 1976, 1977a. Laduron y col. 1977; Baccopoulos y col. 1978; Matsumoto y col. 1983), o situaciones ambientales (Fadda y col. 1978; Hervé y col. 1979

Esta distinción está siendo estudiada extensamente en las neuronas mesocorticales de rata, en relación a sus proyecciones en el cortex anteromedial. Del mismo modo se intentan caracterizar las propiedades de las neuronas DA que inervan estas areas corticales y que probablemente participan en otras redes neuronales.

En relación al papel funcional de las neuronas DA meso-cortico prefrontales, se está discutiendo su contribución al control emocional. Estas neuronas podrían estar implicadas en el comportamiento sueño-vigilia, actividad locomotora y procesos de cognición (Le Moal y col. 1975; Tassin y col. 1978 ; Brozoski y col. 1979; Carter y Pycock 1980; Simon 1981). Esto ha llevado a algunos autores a sugerir que podría representar un substrato específico para la hipótesis dopaminérgica de la esquizofrenia. Para la comprensión del papel funcional es importante diferenciar como y bajo que circunstancias estas neuronas regulan la actividad de sus células diana en el cortex, lo cual requiere investigaciones ulteriores a nivel celular y una precisa organización de las células diana. Por estudios fisiológicos se sabe que las células localizadas en el cortex ante

romedial, donde la inervación DA es particularmente rica, son neuronas altamente colateralizadas proyectando a numerosas estructuras subcorticales (Thierry y col. 1983). Así, entre las numerosas estructuras subcorticales inervadas por células del cortex prefrontal, algunas contienen cuerpos celulares de neuronas DA ascendentes (VMT-SN) y otras, sus nervios terminales (nucleus accumbens, habénula, estriado etc.) (Leonard 1969; Beckstead 1979; Dalssas y col. 1981). Por tanto, las neuronas mesocortico-prefrontales pueden controlar indirectamente la transmisión dopaminérgica en estructuras corticales, además de una gran variedad de funciones límbicas y motoras. De hecho, estudios bioquímicos sugieren que alteraciones de la transmisión DA a nivel cortical tienen variadas consecuencias en la transmisión DA (Pycock y col. 1980; Tassin y col. 1983).

1.2.2. Sistemas neurotransmisores colinérgicos. Función y localización

Las neuronas colinérgicas del cerebro y cordón espinal parecen mostrar dos esquemas de organización:

- 1) Sistemas que están intrínsecamente organizados en una región neuronal dada.
- 2) Sistemas neuronales de proyección difusa.

1) Circuitos locales

Actualmente existe controversia en lo concerniente a si en el cortex cerebral, están presentes o no circuitos locales de neuronas colinérgicas. Aunque la principal fuente de inervación colinérgica cortical parece derivar de procedencias extrínsecas, según todas las probabilidades del cerebro anterior basal, varios parámetros de la función colinérgica permanecen intactos después del aislamiento quirúrgico del cortex.

A diferencia de la situación del cortex cerebral, existe un general acuerdo por el que el principal, sino el único, tipo de neurona colinérgica en el complejo caudado-putamen y nucleus accumbens y probablemente también tubérculo olfatorio, está intrínsecamente organizada. En cuanto a la existencia de circuitos locales de neuronas colinérgicas en otras regiones del cerebro no han sido establecidas con certeza, debido principalmente a la escasez de información relevante. Sin embargo, una estructura neuronal en la que parece se han encontrado algunas neuronas dispersas ricas en AChE es la formación hipocámpal. Respecto a esto existe una cierta controversia, de igual modo que ocurría en el cortex cerebral y aunque probablemente la mayoría de la ACh hipocámpal está asociada a fibras terminales de proyecciones neuronales localizadas fuera de los límites de esta estruc

tura, también es posible que algo de la actividad colinérgica en el complejo hipocampal tenga origen intrínseco.

2) Sistemas de proyección difusa

El cerebro anterior basal de la rata contiene un apreciable número de proyecciones de neuronas colinérgicas. Estas proyecciones comprenden constelaciones de células (relativamente contiguas y, en cierto modo continuas), asociadas a varios niveles con el núcleo septal medial, las ramas horizontal y vertical de la banda diagonal y núcleo preóptico magnocelular, el área preóptica lateral y núcleo bed de la estría terminalis, la sustancia innominata, el pallidum asociado al núcleo basalis y la también llamada ansa-lenticularis.

Considerables datos anatómicos, bioquímicos e histoquímicos, sugieren que muchos de los somas que tienen actividad AChE en estas regiones del cerebro son colinérgicos y son la fuente de las fibras aferentes colinérgicas a varias estructuras telencefálicas y posiblemente también al tronco cerebral. (Bigl y col 1982; Butcher y Woolf 1982a; Jones y col 1976; Mesulam y col 1977; Wenk y col 1980; Emson 1978; Lynch y col 1978; Kelly y Moore 1978; Kimura y col 1980; Eckenstein y Sofroniev 1983; Houser y col 1983a).

Los sistemas de fibras que derivan del complejo cerebro anterior basal incluyen las siguientes proyecciones:

1) Proyecciones desde el núcleo septal medial y la banda diagonal hasta la formación hipocampal y el cortex límbico medial (Bigl y col. 1982; Wenk y col 1980; Lynch y col 1978; Mesulam y col 1977; Lewis y col 1967.)

2) Vías desde la rama horizontal de la banda diagonal y núcleo preóptico

tico magnocelular, al bulbo olfatorio y cortex entorhinal. (Wenk y col. 1980).

3) Fibras de células desde el núcleo basalis y otras grandes neuronas descritas como pertenecientes a la sustancia innominata a la mayoría, si no a todas, las áreas del neocortex. (Mesulam y Van Hoesen 1976; Emson 1978; Kelly y Moore 1978; Emson y Lindvall 1979; Lehman y col 1980; Bigl y col 1982).

4) Proyecciones a la amígdala desde el núcleo septal medial, núcleo de la banda diagonal, área preóptica lateral/pálido ventral y núcleo bed de la estría terminalis, núcleo preóptico magnocelular, núcleo basalis, y núcleo del ansa-lenticularis. (Emson y col 1979; Nagai y col 1982).

5) Fibras de neuronas desde el septum medial y banda diagonal hasta los núcleos habenuar e interpeduncular (Gottesfeld y Jacobowitz 1979).

A pesar de los progresos sobre la neuroanatomía del sistema colinérgico del cerebro anterior basal, hay una relativa escasez de información en lo concerniente a su fisiología. Sin embargo, investigaciones farmacológicas y neuropatológicas sugieren que este sistema está implicado en procesos neuronales a los mas altos niveles de integración y función cerebral. Se han encontrado fármacos que influyen los mecanismos colinérgicos con efectos significativos sobre la memoria (Squire y Davis 1981). También se ha observado una disminución de los índices colinérgicos en el cerebro anterior basal hipocampo y cortex en pacientes con la enfermedad de Alzheimer, o con demencia senil de tipo Alzheimer (Terry y Davis 1980; Whitehouse y col 1981).

En cuanto a las neuronas colinérgicas en diencefalo (incluye tálamo, subtálamo, hipotálamo y epitálamo) se han localizado algunas

regiones con apreciable actividad AChE en neuropilo. Aunque las funciones de esta actividad enzimática no se conocen completamente, los datos disponibles sugieren la existencia de aferentes colinérgicas al tálamo y otros sitios diencefálicos (Shute y Lewis, 1967; Hoover y Jacobowitz, 1979), y es posible que la AChE esté contenida tanto en esas fibras aferentes como en células colinoceptoras del diencefalo.

Otras regiones con respecto a las cuales también existe controversia en lo que a su naturaleza colinérgica se refiere son el hipotálamo lateral, la habénula medial en el epitálamo (Akagi y Powell, 1968; Herkenham y Nauta, 1979) y el núcleo rojo.

La existencia de neuronas colinérgicas en tronco cerebral, parecen mejor establecidas y están ampliamente distribuidas en sentido caudal-ventral del mesencéfalo, posiblemente la extensión rostral del complejo colinérgico pedunculo-pontino, incluyendo el núcleo tegmenti-pedunculo pontis (ó cuneiformis), otros lugares mesencefálicos, el pons y la médula. El pericarion de tales neuronas se encuentra en los núcleos motores somáticos de los nervios craneales III-VII y IX-XII y en los núcleos preganglionares de los nervios craneales III, VII, IX y X así como en el núcleo tegmental dorsolateral y en la formación reticular del troncoencéfalo.

En cuanto a las funciones de los sistemas colinérgicos del tronco cerebral, a excepción de los nervios craneales son escasamente conocidas aunque De Feudis (1974) ha discutido que las neuronas colinérgicas del tronco cerebral están implicadas en la vigilia y consciencia, en algunos comportamientos motores y de motivación, y en algunos mecanismos de regulación y homeostáticos.

1.2.3.- SISTEMAS AMINOACIDERGICOS. FUNCION Y LOCALIZACION

Los aminoácidos considerados como transmisores en SNC son: Glu, Asp, GABA y Gly. Además existen otros aminoácidos neuroactivos en el cerebro: β -Ala, Tau, Pro, Homo-Cis, Cis; pero su papel como transmisores es controvertido. De ellos, la Tau es el más prominente siendo uno de los múltiples papeles el de transmisor inhibidor en las células estrelladas cerebelares (Mc Bride y Frederickson, 1980; Okamoto y col., 1983).

El hecho de que los aminoácidos transmisores, excepto GABA, jueguen un importante papel en el metabolismo celular, en general, implica que estén presentes en todas las células. Parece ser que existen altas concentraciones en células que pueden funcionar como transmisores (J nson, 1978; Fonnum, 1978), aunque esto no está bien establecido. El papel clave del Glu en el metabolismo general y el hecho de que sea precursor del GABA le colocan en una situación especial.

Mediante la utilización de técnicas inmunocitoquímicas, de estudios autorradiográficos y de datos sobre captura, contenido, síntesis y liberación de aminoácidos, así como efectos de denervación se han puesto de manifiesto los contenidos de Glu, GABA y Asp en las estructuras del SNC.

En el bulbo olfatorio, los contenidos de Glu y GABA son complementarios y muestran una distribución laminar. Así, las células mitrales contienen Glu, usando posiblemente Asp o Glu como transmiso (Harvey y col., 1975; Bradford y Richards, 1976; Yamamoto y Matsui, 1976; Collins, 1979a,b,c; Halasz y Shepherd, 1983; Scholfield y col., 1983). Por otro lado, existen pruebas fisiológicas y farmacológicas de que las células grano liberan GABA en sus sinapsis inhibitorias con las células mitrales (Shepherd, 1979; Halasz y Shepherd, 1983).

En el ganglio basal, las proyecciones desde el caudado putamen hasta el globo pálido y núcleo entopedúncular contienen GABA y GAD (Fonnum y col., 1978a; Nagy y col., 1978; Taniyama y col., 1980). El pálido, posiblemente, recibe fibras GABA adicionales desde el núcleo subtalámico (Nauta y Cuenod, 1982); pero no sólo es recipiente sino también fuente de fibras que contienen GABA/GAD. Estas fibras constituyen parte de la proyección palida-subtalámica (Fonnum y col., 1978b), y es posible que las neuronas pálidas contribuyan a la inervación gabaérgica de la sustancia negra.

Estudios sobre lesiones corticales (Divac y col., 1977; Mc Geer y col., 1977; Young y col., 1981a, Carter, 1982; Kerkerian y col., 1983), y de liberación de Glu (Reubi y Cuenod, 1979; Godukhin y col., 1980; Rowlands y Roberts, 1980; Roberts y col., 1982), indican que el caudado putamen recibe una densa entrada de Glu desde el cortex cerebral ipsilateral. De igual forma, Streit (1980), con experimentos sobre transporte retrógrado de D-(³H)-Asp, sugiere que el neostriado recibe fibras Glu/Asp-érgicas desde el núcleo intralaminar del tálamo, así como desde el cortex. Como en el caudado putamen, el núcleo accumbens parece recibir fibras con mecanismo de captura de Glu desde el neocortex (Walaas, 1981). Sin embargo, la entrada de Glu desde la formación hipocampal, parece ser cuantitativamente más importante (Walaas y Fonnum, 1979; Nitsch y col., 1979).

El septum lateral recibe una densa entrada de Glu desde la formación hipocampal (Malthe-Sørenssen y col., 1980). Otra entrada de Glu de origen similar puede también alcanzar partes del núcleo intersticial de la estria terminalis (Walaas y Fonnum, 1980). El hipocampo recibe de vuelta entradas de las supuestas células colinérgicas del septum medial y de la banda diagonal.

En la amígdala y cortex olfatorio, aparece un mayor conteni

nido de GABA y GAD en los núcleos amigdaloides central y medial, que en las restantes partes del complejo amigdaloides (Ben-Ari y col., 1976). La estria terminalis contiene mas GAD que los demás tractos investigados. Los resultados de los trabajos de Fonnum y col., (1981) y Walker y Fonnum, (1983), sugieren que la amígdala recibe aferentes con capacidad de transporte y captura de Glu/Asp así como aferentes sin tal capacidad. Como ya se ha mencionado previamente el Glu y el Asp están asociados con los terminales de los axones de las células mitrales en cortex olfatorio. El Asp se ha propuesto como candidato mas probable para el papel transmisor en los estudios realizados en rata. Sin embargo, trabajos realizados con cobaya adjudican el papel transmisor al Glu (Bradford y Richards, 1976). A pesar de las diferencias en las especies, la identidad del Glu o Asp como transmisor natural del tracto olfatorio es controvertida (Halasz y Shepherd, 1983).

En neocortex de rata las neuronas conteniendo GABA están localizadas homogéneamente tanto en las capas profundas como en las superficiales (Ribak, 1978). En contraste, claras diferencias laminares en cuanto a distribución fueron descritas en cortex estriado y somatosensorial en mono en donde las posibles neuronas Gabaérgicas, parecían tener una organización vertical (Hendrickson y col., 1981; Hendry y Jones, 1981; Houser y col., 1983b).

También se ha observado un alto contenido de Glu neocortical, sugiriendose que muchas de las proyecciones corticofugales contienen fibras glutamatérgicas ó aspartérgicas (Emson y Lindvall 1979; Walaas, 1980; Fonnum y col., 1981), lo cual se discute en conexión con las estructuras diana de tales proyecciones como el caudado o putamen, tálamo, colliculus superior, pons y cordón espinal.

En la formación hipocampal se ha encontrado alta densidad de captura de GABA alrededor de las células piramidales y granulares

que son las células diana de los axones de las células cesto inhibitorias, con GABA como transmisor más probable (Storm-Mathisen, 1978; Alger y Nicoll, 1982).

Existe una buena correlación entre los modelos de captura de D-Asp ó Glu y la distribución de los posibles sistemas de fibras excitatorias en esta estructura, y se ha sugerido un papel = transmisor excitador para el Glu y/o Asp en dicha región hipocampal. Así el Asp es probablemente el transmisor en la proyección comisural al gyrus dentate. De igual modo el Asp parece ser el transmisor junto con el Glu en las colaterales de Shaffer (Fonnum y Storm-Mathisen, 1978). White y col. (1977), corroboraron el papel transmisor del Glu en la vía perforante.

Hjorth-Simonsen (1971) y Swanson y Cowan (1977), sugieren que algunas fibras hipocampo-entorhinales podrían contener Glu. Glu ó Asp podrían estar también asociados con la proyección al subiculum desde el hipocampo (Hjorth-simonsen, 1973; Swanson y col., 1978).

La mayoría de las posibles células gabaérgicas del tálamo están concentradas en el núcleo reticular talámico (Houser y col., 1980; Hendrickson y col., 1983; Ohara y col., 1983). El tálamo probablemente también recibe GABA extrínseco desde la sustancia negra (Di Chiara y col., 1979; Kilpatrick y col., 1980; Straughan y col., 1980).

En cuanto al Glu ha sido encontrado en la mayoría de los núcleos talámicos, incluyendo las células del núcleo reticular. La alta intensidad de captura observada, probablemente refleja una densa entrada glutamatérgica desde el neocortex. Se ha demostrado que las fibras corticogeniculadas transportan retrogradamente D-(³H)-Asp desde el tálamo a sus cuerpos celulares padres en la capa VI del cortex visual (Baughman y Gilbert, 1980, 1981), corroborando el pa

pel transmisor Glu/Asp en esas fibras. Densas acumulaciones de Asp se encuentran también en la mayoría de los núcleos talámicos, incluyendo al complejo ventro basal, núcleos lateral, posterior y para-fascilular, y subdivisión dorsal del cuerpo geniculado lateral.

El hipotálamo es relativamente rico en GABA y GAD. Se han encontrado altos niveles de GAD en las áreas hipotalámicas anterior y preóptica y en los núcleos dorsomedial y periventricular, así como en el núcleo mamilar (Tappaz y col., 1977). Parece ser que la mayoría del GAD hipotalámico está en neuronas intrínsecas (Tappaz y Brownstein, 1977).

Parte de la entrada subicular al hipotálamo (Meibach y Siegel, 1977; Swanson y Cowan, 1977) está probablemente asociada con el Glu. En contraste, no se conoce nada sobre la fuente de entrada Glu/Asp-érgica a la zona incerta.

En la sustancia negra, los niveles más altos de GABA (Kanazawa y col., 1973) y GAD (Fonnum y Walberg 1973), aparecen en las partes central y medial de la pars reticulata, especialmente cerca del borde de la pars compacta. Hay un general acuerdo de que el estriado es la principal fuente de las posibles fibras nigro-petales gaba-érgicas. Sin embargo a pesar de los esfuerzos para resolver la cuestión, es todavía objeto de debate si las supuestas fibras nigropeta-les gabaérgicas se originan predominantemente en palio-estriado (globus pallidus y núcleo entopeduncular) (Mc Geer y col., 1971, 1974; Hattori y col., 1973; Nagy y col., 1978) o en el neostriado (Caudatus putamen) (Kim y col., 1971; Fonnum y col., 1974, 1978a).

Mientras que aún faltan pruebas para identificar estrictamente la proyección pálido talámica definida neuroanatomicamente como proyección GABA (Grofová, 1975, Hattori y col., 1975; Kanazawa y col., 1976; Bunney y Aghajanian, 1976), podría estar mejor establecida la existencia de la vía conteniendo GABA/GAD desde el neoes-

triado a la sustancia negra.

El hecho de que la captura de Glu nigral se reduzca después de la extirpación del cortex frontal sugiere que las fibras cortico nigrales pueden usar Glu o Asp como transmisor (Carter, 1980; Fonnum y col., 1981). También hay pruebas sobre la existencia de fibras nigro fugales conteniendo Glu al núcleo talámico ventromedial ipsilateral (Fletcher y col., 1979). También se han reconocido una terminación de fibras nigro-colliculares gabaérgicas (Rinvik y col., 1976; Gerfen y col., 1982).

En el tegmentum mesencefálico aparecen relativamente altos niveles de inmunorreactividad GABA en los núcleos interpeduncular y rafe dorsal, mientras que el núcleo rojo y la mayoría de la formación reticular muestra niveles intermedios. En contraste hay una gran proporción de células glutamatérgicas en casi todas las partes del mesencéfalo incluyendo el núcleo motor ocular, el rafe dorsal y el núcleo rojo (Bromberg y col., 1981; Young y col., 1981 y Nieuwenellon y Dusticier, 1981).

En cerebelo aparecen altos niveles de GABA/GAD en los somas de las células de Golgi, cestos, estrelladas y de Purkinje, siendo en estas últimas donde aparecen los mayores niveles (Saito y col., 1974; Ribak y col., 1978).

Estudios sobre destrucción de células grano cerebelares en hamster por infección de virus (Young y col., 1974) han sugerido un papel transmisor para Glu en axones de células grano. Por otro lado, las fibras trepadoras olivocerebelares, que terminan en la capa molecular pueden usar Asp como transmisor (Nadi y col., 1977; McBride y col., 1978; Rea y col., 1980). Sin embargo, un papel transmisor para el Glu ha sido propuesto por estudios en el sistema GMP cíclico en cerebelo (Mao y col., 1974).

1.3. RECEPTORES.

Las respuestas biológicas de los neurotransmisores en los tejidos periféricos están mediadas por los receptores. Existen sustancias específicas de importancia tóxica y terapéutica que interactúan con los receptores. El desarrollo de las técnicas de unión a receptores, revelan una buena correlación entre densidad de receptores y densidad de innervación.

1.3.1.- RECEPTORES NORADRENERGICOS

En cuanto a los receptores noradrenérgicos, Ahlquist (1948) propuso la existencia de dos tipos de receptores: α y β , que más tarde se han subdividido en α_1 y α_2 (Langer 1974; Berthelsen y Pettinger, 1977) y β_1 y β_2 (Lands y col., 1967), basándose en criterios funcionales y farmacológicos. El método usado para tratar de comprender el significado de la localización de receptores es establecer correlaciones entre distribución de sitios de unión y otros parámetros como son distribución del neurotransmisor; conocimiento de la acción electrofisiológica del transmisor aplicado localmente y los efectos fisiológicos y farmacológicos de los agonistas o antagonistas catecolaminérgicos.

En el caso del sistema noradrenérgico, la amplia distribución de receptores está en contraste con la más restringida localización de terminales noradrenérgicos en el cerebro. Así por ejemplo: se han encontrado altas concentraciones de β -receptores en áreas pobres en innervación noradrenérgica como los núcleos caudado y putamen y núcleo accumbens y muy ricas sin embargo, en terminales dopaminérgicos.

Hasta el momento no se ha establecido una explicación clara para las discrepancias entre distribución de receptores e innervación. En términos muy generales, se podría decir que las áreas que reciben innervación noradrenérgica del locus coeruleus (Moore y

y Bloom, 1979) tienen concentraciones de β -receptores significativas; las áreas inervadas por neuronas noradrenérgicas con cuerpos celulares en el tegmentum lateral son ricas en α_1 y α_2 receptores. Sin embargo, hay excepciones importantes a esta norma.

En general, existe buen acuerdo entre los datos experimentales electrofisiológicos y la localización autorradiográfica de los receptores adrenérgicos, por ej. en el geniculado lateral (Rogawski y Aghajanian, 1980), y en el locus coeruleus (Cedarbaum y Aghajanian, 1977). En algunos casos, ha sido posible establecer una buena correlación entre localización de sitios de unión y efectos farmacológicos de sustancias actuando en esos sitios. Un buen ejemplo es el del agonista α_2 , clonidina. Muchos de sus importantes efectos terapéuticos se pueden correlacionar con la presencia de significativas densidades de sitios de unión ^3H -clonidina, en áreas específicas del cerebro (Young y Kuhar, 1980). La clonidina tiene también una actividad opiate-like y puede bloquear síntomas de opiáceos. Young y Kuhar (1980) y más recientemente Unnerstall y col., (1981), han demostrado una importante coincidencia entre distribución de receptores opiáceos y receptores α_2 .

1.3.2. RECEPTORES DOPAMINERGICOS

El descubrimiento de los efectos antiesquizofrénicos de los neurolepticos (Deniker, 1970) y sus efectos en el metabolismo de la DA (Carlsson, 1975), conducen a la postulación de la presencia de receptores de DA en S.N.C.

La clasificación inicial de receptores de DA en los subtipos D1 y D2, hecha primero por Spano y col. (1978) y definida más tarde en detalle por Keabian y Calne, (1979), estaba basada en si los receptores de DA estaban asociados o no con adenilato ciclasa. Sin embargo, algunos autores (Seeman 1981; Sokoloff y col. 1980), han

propuesto ahora la existencia no solo de receptores D1 y D2 sino tambien D3 y D4, cuya asociación a adenilato ciclasa es desconocida.

En cuanto a su distribución anatómica en cerebro de rata, en general se ha encontrado una buena correlación entre densidad de receptores y densidad de inervación dopaminérgica. Así, las áreas que contienen los mayores niveles de receptores de DA son el neostriado (caudado y putamen), núcleo accumbens y tubérculo olfatorio. Estas áreas son los mayores campos terminales de la proyección nigroestriatal. También contienen parte de los campos terminales = del sistema mesocortical y están clasificadas como recibiendo la mas densa inervación dopaminérgica en el cerebro. Bajas densidades de receptores han sido encontradas en áreas de los sistemas tuberohipofisial e incerto-hipotalámica.

Otras áreas en las que se han encontrado sitios de unión son el núcleo lateral del tracto óptico y el núcleo dorsal interpeduncular; en los colliculli superior e inferior y núcleo dorsal del rafe.

1.3.3. RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS.

Por estudios bioquímicos y de unión de radioligandos se ha visto que existen varios tipos de receptores de 5-HT: 5-HT₁ y 5-HT₂. Experimentalmente se han encontrado una amplia distribución de receptores de 5-HT en SNC de rata. La mayoría de los sitios están localizados en el cerebro anterior, lo cual está en consonancia con la distribución de fibras serotoninérgicas. La interesante observación de que pocos terminales pueden ser vistos haciendo verdaderos contactos sinápticos (Descarries y Beaudet 1978), puede reflejar el hecho de que 5-HT actúe mas como sustancia humoral que como un verdadero neurotransmisor.

Se han encontrado altos niveles de receptores en el núcleo

límbico (Saavedra y col.,1974),así como en la formación hipocampal gyrus dentate y subicullum, además de en el septum y en el ganglio basal donde la distribución de receptores es paralela a la distribución de fibras serotoninérgicas,siendo los niveles de 5-HT mucho mayores en el globo pálido que en el estriado (Palkovits y col., 1974).La asociación de 5-HT con la disfunción del ganglio basal se está incrementando (Dray, 1981).Los receptores de 5-HT mejoran la enfermedad de Parkinson (Reisine y col.,1977) y la de Huntington (Enna y col., 1976).

En cuanto a la localización de receptores en diencefalo se han encontrado poca densidad en tálamo y moderada en hipotálamo. La distribución de receptores de 5-HT en la línea media del hipotálamo es consistente con el papel de la serotonina en la regulación de la temperatura,conducta,alimentación y bebida (Meyers,1975).

En troncoencéfalo,las áreas mas concentradas son la sustancia negra,el núcleo interpeduncular,el colliculus inferior y los núcleos del rafe,apareciendo muy dispersos en el locus coeruleus y núcleo motor del nervio trigeminal.

En cerebelo,aparecen muy bajas concentraciones de 5-HT.

1.3.4. RECEPTORES COLINRGICOS.

Existen dos tipos de receptores de ACh en SNC de mamíferos: los muscarínicos y los nicotínicos.Ambos se encuentran extensamente distribuidos en SNC desde el bulbo olfatorio al cordón espinal, pero de modo irregular.

Los estudios para su visualización se basan en técnicas autorradiográficas de unión de ligandos marcados a los receptores a nivel de microscopio óptico "in vivo" e "in vitro".Los dos receptores aparecen en áreas distintas del cerebro,aunque existen zonas en las que coinciden.En cuanto a la correlación entre densidad de

receptores y densidad de inervación, se ha visto que los receptores colinérgicos están presentes en las áreas inervadas por fibras colinérgicas pero, sin embargo, lo inverso no es necesariamente válido, ya que algunas áreas con altas densidades de receptores están aparentemente desprovistas de inervación colinérgica identificada.

Se han encontrado altas densidades de receptores muscarínicos en el bulbo olfatorio, mostrando distribución laminar (Rotter y col., 1979a). La presencia de receptores nicotínicos en esta estructura se reduce a la capa glomerular y a la parte mas interna de la capa plexiforme (Hunt y Schmidt, 1978). La distribución laminar de receptores es extensiva al hipocampo y gyrus dentate, apareciendo distintos sitios de localización para los receptores muscarínicos y nicotínicos (Segal, 1978).

En estriado, núcleo caudado, núcleo accumbens y en menor extensión el claustrum, tienen altos niveles de unión de ligandos a los receptores muscarínicos (Kuhar y Yamamura, 1975, 1976; Rotter y col., 1979a). Por otro lado, según Hunt y Schmidt (1978), no existe una unión significativa de ligandos nicotínicos en el núcleo caudado de rata aunque si se ha encontrado en ratón (Marchand y col., 1979; Arimatsu y col., 1981).

Altos niveles de receptores muscarínicos se han encontrado en las capas superficiales del colliculus superior y del colliculus inferior (Rotter y col., 1979b; Wansley y col., 1981a) y también se han encontrado altos niveles de unión de ligandos nicotínicos (Hunt y Schmidt, 1978; Segal y col., 1978; Arimatsu y col., 1978, 1981). A pesar de la presencia de AChE (Palkovits y Jacobowitz, 1974) y ChAT (Kobayashi y col., 1975) en el colliculus superior, las proyecciones retinales primarias no parecen ser colinérgicas (Bigl y Shober, 1977). En el colliculus inferior también han encontrado AChE y ChAT y además recibe aferentes de todas las células del núcleo ven

tral del lemnisco lateral (Adams, 1979). Esta última área tiene las más altas densidades de receptores muscarínicos del troncoencéfalo (Rotter y col., 1979b) así como también intensa unión de ligandos nicotínicos (Arimatsu y col., 1978, 1981; Hunt y Schmidt, 1978; Segal y col., 1978).

Estudios autorradiográficos y de unión de ligandos muscarínicos indican que en el núcleo interpeduncular (donde operan mecanismos colinérgicos, Palkovits y Jacobowitz, 1974; Kuhar y col., 1975; Cheney y col., 1975) hay bajos niveles de receptores muscarínicos, sugiriendo que las sinapsis colinérgica de este área podrían usar receptores nicotínicos (Arimatsu y col., 1978, 1981).

Rotter y col. (1979b), indican la presencia de receptores muscarínicos en la capa molecular del vermis del lóbulo X y la parte ventral del vermis del lóbulo IX en cerebelo de rata adulta. Altman y Das (1970) sugieren que las células grano del cerebelo son colinoceptivas y que reciben dos probables puentes de entrada colinérgicos: una entrada extrínseca de fibras musgosas colinérgicas que ocurre solo en vestibulo-cerebelo y una entrada intrínseca desde las células golgi, y están presentes en cerebelo pero más densamente empaquetadas en vestibulo cerebelo. Ambas entradas establecen sinapsis con dendritas de células grano en los glomérulos. Por lo tanto, están confinadas en la capa granular. No hay prueba de sinapsis colinérgicas en la capa molecular. Por esta razón, no está totalmente claro que la unión de ligandos muscarínicos se produzca en la capa molecular y no en la granular. Experimentos posteriores pueden establecer que componentes de la capa molecular tienen receptores muscarínicos.

Las motoneuronas de los nervios craneales que suministran fibras al músculo estriado son colinérgicas y todas las series de núcleos motores de los nervios craneales, muestran altos niveles de AChE

(Palkovits y Jacobowitz, 1974) y ChAT (Kobayashi y col., 1975). La presencia de altos niveles de receptores muscarínicos (Rotter y col., 1979b; Wamsley y col., 1981a) sugieren que esos núcleos son también colinoceptivos. Apenas se han encontrado unión de ligandos nicotínicos en estos núcleos, excepto en el núcleo ambiguo (Hunt y Schmidt, 1978).

Bajas, pero significativas, concentraciones de receptores muscarínicos se han observado en algunos tractos de fibras como el cuerpo calloso y los pedúnculos cerebelares (Kuhar y Yamamura, 1975 1976; Rotter y col., 1979a,b; Wamsley y col., 1980, 1981a).

Se ha sugerido que estos receptores están localizados en axones de células colinoceptivas (Hiley y Burgen, 1974) y podrían estar implicados en procesos de transporte axonal, como ha sido demostrado para los receptores muscarínicos en los nervios ciático (Wamsley y col., 1981b) y vago (Zarbin y col., 1982).

1.3.5.- RECEPTORES AMINOACIDERGICOS

Los aminoácidos neurotransmisores median o influyen en una serie de respuestas fisiológicas y existe una serie de drogas para los receptores aminoácidos importantes tóxicos y terapéuticamente.

Receptores del GABA

Diferentes tipos de investigaciones indican que la inhibición mediada del GABA (presináptica o postsináptica, puede jugar un importante papel en el movimiento, función endocrina, comportamiento, y puede mediar sobre algunos efectos adversos en enfermedades del SNC en humanos. Estudios electrofisiológicos y bioquímicos sugieren la existencia de dos tipos de receptores del GABA, que varían en su afinidad por los ligandos agonistas, pero con una farmacología similar. Así, un subgrupo de receptores del GABA está íntimamente asociada

do con el sitio de unión de las benzodiazepinas; y el otro subgrupo es baclofen sensible y bicucullina insensible.

La distribución regional de los sitios de unión de los receptores del GABA es similar en cerebro de rata y cerebro de humanos, presentando los valores más altos en cerebelo y cortex cerebral; de intermedios a bajos en cuerpo estriado, cerebro medio, tronco cerebral y cordón espinal (Enna y Snyder, 1975; Enna y col., 1977).

En cerebelo, experimentos de lesión en las células grano indican que un 60% de los receptores del GABA están localizados en este tipo de célula (Stümantov y col., 1976). En contraste, mediante técnicas autorradiográficas con ^3H -muscimol (agonista) se ha sugerido que la unión se produce en las células de Purkinje (Chan-Palay, 1978). Sin embargo, un estudio autorradiográfico más reciente utilizando una técnica de marcaje in vitro, ha encontrado que la mayor acumulación de ^3H -muscimol aparece de hecho, en las células grano (Palacios y col., 1980). La localización celular precisa de los receptores del GABA en otras regiones del cerebro está peor definida.

Receptores del GLU y ASP

La caracterización de los sitios de unión para el GLU y ASP está todavía en estado rudimentario, en comparación otros muchos neurotransmisores.

Por estudios autorradiográficos se han localizado sitios específicos de unión del ácido kaínico, que se relacionan con los receptores del GLU.

Trabajos sobre la distribución subcelular de estos sitios en cerebro muestran que la unión se localiza en cerebro sobre todo en fracciones sinaptosomales, estando muy asociada con neuronas vulnerables a la acción neurotóxica del ácido kaínico y es relativamente deficiente en otras fracciones (Simon y col., 1976b). Los sitios

de unión muestran una desigual distribución regional en cerebro de rata teniendo el cuerpo estriado la más alta concentración, el cortex cerebral algo menor, el cerebelo niveles intermedios y los más bajos aparecen en regiones del tallo cerebral incluyendo hipotálamo médula y pons (London y Coyle, 1979).

Johnston (1978) ha propuesto la existencia de al menos, cuatro sitios de unión separados, en orden a acomodar las observaciones que se han hecho al respecto. Es probable que investigaciones posteriores con ligandos antagonistas como 2-amino-4-fosfoisobutirato, α -aminoadipato y L-glutamato dietil ester (GDEE) y con ligandos agonistas como N-metil-D-Aspartato (NMDA), ibotenato y quisqualato faciliten esta caracterización.

2.- NEUROLEPTICOS

=====

El término neuroléptico fue sugerido por Delay y Deniker en 1957 para resaltar el perfil farmacológico similar de dos medicamentos con estructuras químicas enteramente diferentes, la clorpromazina y la reserpina y para distinguir estas sustancias de los depresores generales como los clásicos hipno-sedantes (barbitúricos, etc.). Los neurolépticos, antipsicóticos o tranquilizantes mayores son medicamentos psicótropos que ejercen efectos terapéuticos sobre manifestaciones psicopatológicas, tanto de funciones superiores como de mentales, como del comportamiento. La categoría de sustancias psicótropas comprende todas las sustancias químicas que produzcan cambios primarios de comportamiento en animales o sujetos humanos.

Los efectos más destacados de los neurolépticos son la creación de un estado de ligera indiferencia afectiva, con disminución de la vigilancia e iniciativa, disminución de la actividad locomotora, especialmente exploratoria y en animales la interrupción del comportamiento condicionado; mejoran los estados de excitación, agitación y agresividad; y tienen una verdadera acción antipsicótica observada en pacientes con estados psicóticos tanto agudos como crónicos (esquizofrenia y mania). Estos efectos se obtienen sin obscurecimiento de la conciencia o debilitamiento de las funciones intelectuales, y grandes dosis no producen ataxia o anestesia como despues del tratamiento con barbituratos. Como efectos colaterales se han señalado transtornos de coordinación motora (Parkinsonismo y otros síntomas extrapiramidales). También en animales se observa catalepsia, así como producen efectos neurovegetativos y endocrinos secundarios, como la galactorrea debido al aumento en la secreción de prolactina

2.1. TIPOS DE NEUROLEPTICOS

El esquema de clasificación propuesto por la OMS en su informe sobre Investigación y Psicofarmacología (1967) es simple, pero complato y tiene en cuenta otros propuestos con anterioridad. Así, los neurolépticos están representados por:

- A) Fenotiazinas: Clorpromazina, Tioridazina, perfenazina...
- B) Butirofenonas: Haloperidol...
- C) Tioxantenos: Clorprotixeno, tiotixeno
- D) Derivados de reserpina: Benzoquinolizinas.
- E) Otros: Neurolépticos de acción retardada: Flufenazina, Pipotiazina

Derivados indólicos: Molindon

Derivados de las series acridane: Clomacran

Derivados de las series difenilbutilpiperidinas: Pimozide

Sulpiride

etc.

En los años 1950, poco despues del descubrimiento de las dos clases mas importantes de los modernos agentes psicoterapéuticos, los neurolépticos y los antidepresivos, se vió que estas sustancias interaccionaban con las monoaminas en el cerebro. Basados en el perfil del bloqueo catecolaminérgico central, se pueden clasificar los neurolépticos como sigue:

- A) Substancias con marcada actividad anti DA en los sistemas estriado y mesolímbico, y sin o con negligible actividad anti NA. Tales substancias producen transtornos extrapiramidales pero poca actividad antipsicótica (metoclopramida).
- B) Substancias con capacidad para bloquear ambos sitios receptores DA y NA en los sistemas estriado, mesolímbico y presumiblemente en otras estructuras con proyecciones catecolaminérgicas. Tales subs-

tancias producen transtornos extrapiramidales y actividad antipsicótica (neurolépticos con actividad antipsicótica: CPZ. Hal, molindon etc.)

C) Substancias con predominancia de efectos anti NA en el sistema límbico y probablemente en otras estructuras cerebrales pero con debiles efectos centrales anti DA. Estas substancias muestran eficacia antipsicótica con mínimos efectos extrapiramidales (substancias antipsicóticas sin o con moderada actividad neuroléptica: clozapina, tioridazina) .

2.2.- MECANISMO DE ACCION DE LOS NEUROLEPTICOS

2.2.1. ACCION DE LOS NEUROLEPTICOS SOBRE NEUROTRANSMISION DOPAMINERGICA

La acción primaria de CPZ y Hal es el bloqueo de los receptores de DA. A esta causa primaria se deben tanto la producción de efectos terapéuticos secundarios (extrapiramidales por bloqueo de DA es triatal; y elevación de los niveles de prolactina por bloqueo de DA tuberoinfundibular), como la acción terapéutica (por bloqueo de DA mesolímbica).

2.2.1.1. Alteraciones por tratamiento con neurolépticos sobre receptores de DA.

1) Estudios electrofisiológicos

Los efectos sobre el comportamiento en rata producidos por administración de DA (o de su liberación via precursor L-DOPA o por amfetamina) o de algún agonista dopaminérgico como apomorfina, son antagonizados por los neurolépticos, y este efecto es dependiente de la dosis (Pijnenburg y col. 1973).

Jansen (1967) sugirió que el efecto de inhibición de la respuesta de huida condicionada, inducida por haloperidol está mediada por acción bloqueante sobre los receptores dopaminérgicos del sistema nigroestriatal. A la luz de esta idea, se han realizado una serie de trabajos según los cuales la L-DOPA y apomorfina revierten este efecto (Davies y col. 1973); y en cambio el Litio lo potencia (Ahlenius y Engel 1974), así como también lesiones en el núcleo parafascicular del tálamo (la pérdida de neuronas talamo-estriadas aumenta la acción del bloqueo de receptores de DA en el sistema motor extrapiramidal) (Ahlenius 1980). En el caso de la CPZ también se potencia esta acción por inhibición de la anhidrasa carbónica por acetazolamida (sin considerarse este efecto aditivo) (Schnell 1974).

La aplicación iontoforética de DA y la administración sistémica de apomorfina inhibe la actividad neuronal de las células dopaminérgicas del sistema nigroestriatal, y este efecto es revertido por antipsicóticos (Hal). Estas observaciones, implican el bloqueo de los receptores de DA presinápticos (autorreceptores), proponiéndose que la DA se libera mediante un circuito de regulación feed back (Bunney y col. 1973; Gallagher y col. 1978; Hoffman y Cubeddu 1972).

La administración sistémica de neurolépticos (Hal) estimula el disparo de las células dopaminérgicas del sistema nigroestriatal (Bunney y Grace 1978; Kondo e Iwatsubo 1980).

En cuanto a las respuestas sobre la actividad de las células dopaminérgicas, existen diferencias según que el tratamiento sea agudo o crónico. Se han realizado una serie de estudios electrofisiológicos al respecto. Bunney y Grace (1978) observaron que el tratamiento agudo con Hal (0,5 mg/Kg s.c.) parece activar células dopaminérgicas que normalmente están inactivas, así como acelerar la velocidad de

disparo de las neuronas dopaminérgicas realmente activas. El mecanismo por el que las neuronas dopaminérgicas se excitan es debido a un feedback neuronal, reflejo de una reducción en la inhibición sináptica de las células del núcleo caudado por DA.

El tratamiento crónico con Hal (0,5 mg/kg s.c. durante 3 semanas), produce una fuerte disminución en el número de células espontáneamente activas en la zona compacta de la Substancia Negra. Tras la retirada del tratamiento (una semana mas tarde), la mayoría de las células todavía permanecen inactivas. Este hecho puede ser debido a que en la gran mayoría de ellas se produce un bloqueo de la depolarización tónica, que parece estar mediado por una activación feedback secundaria al bloqueo del receptor postsináptico, conectada con el estriado. Tampoco se descarta la posibilidad de que el efecto sea debido a un desarrollo gradual de autorreceptores inhibitorios supersensibles en Substancia Negra. Estos resultados fueron confirmados y completados por Meller y col. (1979), midiendo los niveles de DOPAC nigral y estriatal. Este mecanismo podría explicar el desarrollo de los efectos secundarios extrapiramidales (tipo Parkinson) (Bunney y Grace 1973), y quizás la Diskinesia Tardía (Skirboll y Bunney 1979). Además es posible que este mecanismo opere también en los sistemas dopaminérgicos cuyo origen es el área ventral tegmental (A10) y que inerva los sistemas límbico y cortical, pudiendo tener relevancia en el inicio de los efectos terapéuticos de esta sustancia. En este sentido White y Wang (1982), mediante estudios de lesión en el núcleo accumbens de rata con ácido iboténico, sugieren que la acción antipsicótica del tratamiento con Hal, podría resultar de una combinación del antagonismo sobre los receptores de DA y la inactivación de las células dopaminérgicas del área ventral tegmental (A10), estando el efecto mediado por un circuito feedback núcleo accumbens-área ventral

tegmental (A10),distinto al estrio nigral.

2) Estudios sobre la sensibilidad de los receptores de DA por tratamiento crónico con neurolépticos.

En1967,Schelkunov observó,que como consecuencia de la administración crónica de neurolépticos en ratas y ratones se producía un aumento de la intensidad y duración en las respuestas a la anfetamina y apomorfina (incremento de la conducta estereotipada).La pérdida de sensibilidad de los receptores de DA al tratamiento neuroléptico va acompañada de una alta sensibilidad a la estimulación dopaminérgica que persiste durante algunas semanas despues de la retirada del tratamiento.Esta alteración ha sido asociada con un incremento en los sitios de unión de los receptores de DA y elevación de la actividad adenilato ciclasa DA-sensible en estriado.

Tambien se ha observado un aumento de la actividad de calmodulina en membranas estriatales en ratas tratadas cronicamente con Hal y CPZ.

Existen muchos trabajos en la literatura en ratas, ratones, hamsters, monos, humanos, que demuestran la supersensibilidad de los receptores de DA postsinápticos. (Gianutsos y col. 1974; Sayers y col. 1975; Smith y Davis 1976; Gianutsos y Moore 1977; Weiss y Santelli 1978; Gerlach y Simmelsgaard 1978; Davis y col. 1978; Arima y col. 1986.)

Muller y Seeman (1977), por tratamiento crónico con Hal(10 mg/kg/día durante tres semanas), no solo observaron supersensibilidad en el sistema estriatal sino tambien en el mesolímbico. Apoyándose en los resultados de Kelly y Moore (1976), que observaron que el sistema límbico dopaminérgico puede funcionar como modulador del siste-

ma dopaminérgico estriatal, propusieron que si ambos sistemas son supersensibles como resultado del pretratamiento con Hal, es posible que el efecto de las dos supersensibilidades esté multiplicado.

Tampoco descartan que otros sistemas neurotransmisores y otros receptores puedan estar implicados (5-HT, NA). En este sentido Jackson y col. (1979) propusieron la implicación en el síndrome hiperquinético de NA. Estos resultados fueron corroborados por Gianutsos y Moore (1977), y Davis y col. (1978), Stock y col. (1980) observaron supersensibilidad en los autorreceptores de DA neostriatal, en ratas tratadas crónicamente con Hal (0.5 mg/kg i.p. durante 16 días) y estimuladas con γ -butirolactona.

El tiempo de los tratamientos crónicos referidos, oscilan alrededor de los 30 días, pero Clow y col. (1979) aportan pruebas de comportamiento y bioquímicas que muestran que los receptores de DA estriatales se hacen supersensibles en ratas tratadas con trifluoperazina durante 6 meses. Esta supersensibilidad no se caracteriza por un incremento de los sitios receptores, sino por una tendencia a un aumento en la afinidad de los receptores por ^3H -spiperone (marcador de los receptores D2).

Por el contrario, Owen y col. (1980) observaron que el tratamiento crónico con Hal (1.5 mg/kg vía oral durante 9 meses con o sin período de retirada del fármaco), provoca una supersensibilidad de los receptores de DA, caracterizada in vitro por un marcado incremento en el número de sitios de unión para ^3H -butirofenonas, sin cambios en la afinidad de los receptores. La discrepancia se puede explicar por las diferentes clases y dosis de neuroleptico utilizado.

La adenilato ciclasa estimulada por DA, forma parte integral del receptor de DA. Ya que el cAMP parece mediar los efectos de la

DA sobre las neuronas del estriado (Iversen 1975), es posible que la supersensibilidad esté asociada con un aumento en la velocidad de formación o una disminución en la velocidad de degradación de cAMP en células del caudado. Hay algunos estudios sobre el efecto del tratamiento crónico con neurolépticos sobre la actividad adenilato ciclasa, pero los resultados son contradictorios. Así Iwatsubo y Clouet (1975) encontraron que el tratamiento agudo con Hal, causaba un incremento transitorio sobre la actividad adenilato ciclasa en preparaciones de estriado de rata con destrucción de terminales nerviosos, y que el tratamiento crónico con Hal, producía un aumento de la actividad adenilato ciclasa DA-sensible en las mismas preparaciones. Estos resultados fueron confirmados por Treisman y col. (1986).

Por otro lado, Rotrosen y col (1975) no encontraron cambios en la sensibilidad adenilato ciclasa estriatal basal o estimulada por DA, después del tratamiento crónico con neurolépticos (CPZ, reserpina, flufenazina).

Fredholm (1977) encontró la existencia de una fosfodiesterasa para cAMP estriatal, cuya actividad disminuye por tratamiento crónico con Hal, que podría llevar a un aumento de la acumulación de cAMP, después de la administración de agentes que estimulan la adenilato ciclasa. Como los efectos de los agonistas de los receptores de DA están mediados por cAMP en estriado (Rotrosen y cols 1975 ; Siggins y cols 1974) , este mecanismo podría explicar la supersensibilidad a los efectos de los agonistas de los receptores de DA en estriado.

Las interacciones de las sustancias psicoactivas como CPZ y Hal, con las membranas biológicas son conocidas y están probablemente relacionadas con sus acciones farmacológicas (Seeman y Lee 1975). Se ha observado un significativo incremento de la actividad

calmodulina en las membranas estriatales de ratas tratadas cronicamente con dichas sustancias. La calmodulina es una proteína receptora de calcio, une calcio y estimula una serie de sistemas enzimáticos, incluyendo las proteínas kinasa (Cheung 1980). Calmodulina y proteína kinasa dependiente de calmodulina, juegan un importante papel en la neurotransmisión (a través de la fosforilación de alguna proteína neural importante para la modulación de la sensibilidad de los receptores. Greengard 1979), y modulación sináptica (De Lorenzo 1982); así como en las funciones de los receptores de fármacos (Gnegy y col 1977).

Los neurolepticos antagonizan in vitro las acciones de la calmodulina en muchos sistemas enzimáticos (Weiss y cols 1982). Cuando las ratas son tratadas cronicamente con Hal (1 mg/ Kg s.c. durante 20 días) se produce una elevación de los niveles de calmodulina en las membranas estriatales. Se han estudiado las actividades proteína kinasa dependiente de cAMP y de calcio en dichas ratas y se ha visto que con el tratamiento crónico, la fosforilación independiente de calcio disminuía pero aumentaba la fosforilación dependiente de calmodulina, Ca^{2+} y cAMP en preparaciones de estriado. (Lau y Gnegy 1982). Estos estudios indican que el calcio (probablemente a través de calmodulina), y el sistema cAMP pueden participar en las funciones de los receptores de DA y regular la sensibilidad de sus respuestas.

Lau (1984) ha caracterizado dos proteínas en membranas del cerebro y fracciones de sinaptosomas cuya fosforilación (promovida por calcio y calmodulina) ha sido asociada con liberación de sustancias transmisoras (De Lorenzo 1982).

El tratamiento crónico con Hal (1 mg/ Kg s.c. durante 20 días) no alteraba la curva de unión de ^{125}I -calmodulina estriatal.

In vitro el Hal (10^{-4} M) no tenia efectos sobre la fosforilación dependiente de calmodulina, ni reducía el número sino la velocidad de unión de 125 I-calmodulina en preparaciones estriatales aisladas. Estos datos sugieren que la conexión entre los receptores de DA y enzima dependiente de calmodulina está disociada in vitro. Por otro lado, la sensibilidad potenciada de la proteína quinasa dependiente de calmodulina en ratas tratadas crónicamente con Hal se podría correlacionar con las respuestas de los receptores de DA supersensibles que se producen en dichas ratas. Por esta razón, la proteína quinasa calmodulina dependiente podría regular bioquímicamente las funciones de los receptores de DA en estriado in vivo.

2.2.1.2. Acciones sobre síntesis, catabolismo y dinámica de DA.

La administración a corto plazo de neurolepticos (CPZ y Hal), aumenta la liberación, síntesis y catabolismo de DA en cerebro (Carlson y Lindquist 1963; Zivkovic y col 1974; Burki y col 1975; Scatton y col 1976; Scatton y col 1977; Bacopoulos y col 1978; Fine y col 1986).

Este hecho se explica por una activación alostérica de la tirosina hidroxilasa debido a un aumento en la afinidad por el cofactor de pteridina reducida y es el resultado de la capacidad de estos fármacos para interaccionar con los receptores de DA postsinápticos, pudiendo ser revertido por agonistas dopaminérgicos (Zivkovic y col. 1975).

Estudios catabólicos y de inhibición de MAO, llevados a cabo mediante técnicas radioenzimáticas por Fekete y col. (1979), demuestran variaciones regionales de los niveles de DOPAC en los núcleos cerebrales por tratamiento a corto plazo con Hal (0,5 mg/Kg. i.p. durante cinco días). Mientras que los niveles de DOPAC aumentan en los núcleos del estriado y sistema límbico, prácticamente no hay cambios

en los núcleos del hipotálamo; el mesencéfalo, la sustancia negra (A9) y área ventral tegmental (A10) son insensibles al tratamiento mientras que en el locus coeruleus el nivel de DOPAC desciende.

También se han observado variaciones en los niveles de HVA por tratamiento agudo y crónico con CPZ (Wiesel y col., 1975) y - Hal. (Chang y col., 1986a).

Clinicamente los neurolepticos se emplean durante un largo periodo de tiempo. Por eso es muy importante examinar los efectos del tratamiento con neurolepticos a largo plazo. Existen una diversidad de estudios bioquímicos al respecto. Así, el tratamiento crónico con Hal. (0,7 mg/Kg, durante 11 días) disminuye la síntesis y la dinámica de DA en estriado, pero no en las áreas mesolímbicas (núcleo accumbens y tuberculo olfatorio) y mesocortical (cortex cerebral) (Scatton y col., 1976).

Lerner y col. en 1977 observaron que como consecuencia del tratamiento crónico con Hal. (1mg/Kg i.p. durante 4, 10 y 14 días) en estriado de rata, disminuye la actividad tiroxina hidroxilasa y la dinámica de DA (por disminución de los metabolitos DOPAC y HVA) y se produce tolerancia a dosis repetidas del fármaco. Probablemente este hecho sea debido a adaptaciones (o cambios) en el estado cinético de la Tiroxina hidroxilasa. Scatton y col. en 1977b, corroboraron los resultados de Lerner y col. (1977) en estriado; sin embargo, observaron que en la retina no se desarrollaba tolerancia a dosis repetidas del neuroléptico. las razones de ello pueden depender de diferencias en los mecanismos reguladores de los sistemas dopaminérgico, como consecuencia de diferentes conexiones interneuronales.

En el sistema dopaminérgico tuberoinfundibular tampoco se desarrolla tolerancia (Fuxe y col., 1975; Tsutsumi y col., 1982).

En este sentido, Tissari y col, 1979 propusieron que las neu

ronas dopaminérgicas se harían resistentes al efecto estimulante de las aferencias estrio-nigrales, debido a una autoinhibición - producida por el aumento persistente en el contenido de DOPAC en sustancia negra que se origina por tratamiento crónico con Hal y que se podría interpretar como un aumento de liberación de DA en las dendritas (Korf y col., 1976), que llevaría a dicha autoinhibición.

El hecho de que el efecto del Hal. (0,3 mg/Kg i.p.) sobre los niveles de DOPAC persista después de la destrucción de los receptores de DA postsinápticos con ácido kaínico (Di Chiara y col. 1977) sugiere que el aumento de la síntesis de DA inducido por Hal en sustancia negra, está mediado por una acción presináptica sobre los receptores de DA o sobre los autoreceptores en sustancia negra. Apoyándose en esto, Argiolas y col. (1979), proponen que el Hal, actuando sobre los autoreceptores nigrales, podría bloquear el mecanismo por el que las neuronas dopaminérgicas limitan su propia excitabilidad y la síntesis de DA. Por otro lado, también podría influenciar los niveles de DOPAC en sustancia negra, bloqueando la adenilato ciclase dopamino sensible localizada en los terminales axónicos de neuronas que inervan la sustancia negra y se originan en el estriado (Gale y col., 1977). El hecho de que los niveles de DOPAC se mantengan tras la retirada del tratamiento, indican que este efecto no está correlacionado con la presencia del Hal en cerebro, sino con una modificación estable en la síntesis de DA, que sería un índice del aumento en la estimulación de autoreceptores por aumento de DA en las dendritas. Este mecanismo podría contribuir al desarrollo de tolerancia a los efectos del Hal en el sistema nigro-estriatal. Esta teoría es apoyada por Ishii y Kato, (1985), que la amplían a los receptores dopaminérgicos de

vias no dopaminérgicas que terminan o se originan en sustancia negra (neuronas gabaérgicas, sustancia P, etc...) y que influirían la conexión de la via neuronal caudatus-putamen.

Ninguno de los elementos sobre los que el Hal podría actuar, modificando los niveles de DOPAC parecen estar presentes en el área ventral-tegmental (A10) (no existen pruebas sobre la existencia en este área de un circuito feed-back desde las áreas cortical-frontal y límbicas; ni se ha detectado adenilato ciclasa dopamina sensible en el área ventral tegmental (A10), Premont y col, (1976). La ausencia de cambios en el metabolismo de DA en el área ventral-tegmental, podría explicar la falta de tolerancia al efecto del Hal sobre la síntesis de DA en el sistema mesocortical.

Sin embargo, Tsutsumi y col., (1982) demuestras fluorimetricamente tolerancia a los efectos producidos a largo plazo con Hal (1 mg/Kg i.p. durante 5 - 10 semanas) tanto en el sistema nigrostriatal como en el mesolímbico. Las discrepancias con otros autores pueden ser debidas a la duración del tratamiento.

Estudios realizados en mono por Bacopoulos y col (1978) confirman los resultados de Argiolas y col., (1979) y sugieren que - quizás dichos resultados puedan ser extrapolados al hombre, proponiendo que el cortex cingula y frontal podrían ser posibles sitios de acción terapéutica de los antipsicóticos. Los estudios de Kaneno y col., utilizando CPZ (1978) apoyan los resultados anteriores así como más recientemente los de Chang y col., (1986b).

Saller y Salama (1985) en un intento de establecer las relaciones precisas, durante y después del tratamiento con Hal en estriado de rata, entre los cambios inducidos por los neurolépticos en el metabolismo de DA, sensibilidad de receptores de DA y número de células conteniendo DA que son electrofisiológicamente

activas, sugieren que la actividad dopaminérgica basal puede estar reducida durante algún tiempo después de la interrupción del tratamiento con Hal, quizás como resultado de un aumento de la sensibilidad de los autoreceptores de DA y una posible reducción en el número de células de D₁ activas.

2.2.2.- ACCION DE LOS NEUROLEPTICOS SOBRE NEUROTRANSMISION NORADRENÉRICA.

Existen sistemas neurotrasmisores distintos al dopaminérgico que pueden ser afectados por tratamiento crónico con neurolepticos. Estos fármacos estimulan la síntesis y dinámica de NA en cerebro, presumiblemente vía feed-back mediado por receptores noradrenérgicos (Carlsson y Lindqvist (1963); Gey y Pletscher (1968); Andén y col. (1970).

Por administración crónica del Hal se desarrolla tolerancia a la estimulación de la dinámica de NA (Burki, 1973). Nyback y Sedvall (1970) sugieren que el aumento de la dinámica de NA se podría correlacionar con las propiedades sedativas de estos fármacos.

Existen trabajos electrofisiológicos que prueban que la transmisión noradrenérgica central es alterada por neurolepticos. Así, Freedman y Hoffer (1975) y Freedman y col., (1977), registrando la actividad de las células de Purkinje cerebelares, encontraron que los neurolepticos son potentes antagonistas de la transmisión noradrenérgica procedente del locus coeruleus; Muller y Seeman, (1977) observaron que la administración crónica del Hal (10 mg/Kg durante 3 semanas) incrementaba la unión de ligando ³H-WB 4101 a los receptores de NA en cortex cerebral; Peroutka y col, (1977) demostraron que las butirofenonas (incluyendo Hal) son anta

gonistas de los receptores α -adrenérgicos compitiendo con ^3H -WB 4101 por la unión; Kelly (1981) encontró que el Hal aumenta significativamente la liberación de NA en cortes cerebelares, inducida por potasio.

La correlación entre las acciones de los neurolépticos sobre el sistema noradrenérgico y sus efectos antipsicóticos en humanos, no se ha podido establecer (Burki y col, 1975). Parece ser que el bloqueo α -adrenérgico, no es esencial para la acción antipsicótica ya que existen antipsicóticos (metoclopramida) que carecen de actividad α -adrenérgica y agentes bloqueantes α -adrenérgicos (fenoxibenzamina) que carecen de actividad antipsicótica.

Sin embargo, existen trabajos que muestran la implicación de los efectos de los neurolépticos sobre el sistema noradrenérgico central como contribución potencial a las propiedades antipsicóticas de tales drogas, concretamente en la depresión postpsicótica. Dinan y Aston-Jones (1984) observaron que la administración aguda de 0,5 mg/Kg de Hal aumentaba la velocidad de disparo de las neuronas del locus coeruleus, mientras que estudios de tratamiento crónico (0,5 mg/Kg durante 21 días) realizado por estos mismos autores en 1985, muestran una disminución en la actividad de estas neuronas haciéndose muchas de ellas no espontánea. En locus coeruleus el Hal podría producir estos efectos antagonizando los mecanismos receptores noradrenérgicos. La teoría de las monoaminas, sobre desórdenes afectivos, predice que los fármacos que disminuyen el rendimiento funcional de los sistemas de monoaminas, causan depresión (Zis y Goodwin, 1982). En este sentido, el hecho de que -aparezcan muchas neuronas no espontáneas en el locus coeruleus por tratamiento crónico con neurolepticos podría provocar la depresión farmacogénica.

Por otro lado, hay en la literatura una serie de trabajos que sugieren la influencia del sistema noradrenérgico en las respuestas catalépticas. Honnma y Fukushima (1977) y Alshabibi y Doggett (1978), encontraron que la disminución en el contenido de NA cerebral producida por inhibidores de dopamina β -hidroxilasa, aumentaba la catalepsia en ratas inducida por haloperidol. También encontraron que la clonidina (α -agonista) en pequeñas dosis ó la yohimbina antagonizaban la catalépsia inducida por Hal, mientras que la fenoxibenzamina la potenciaba. Estos trabajos sugieren que el efecto cataleptogénico del Hal es antagonizado por hiperfunción noradrenérgica y es aumentado por su hipofunción. En este sentido, Toru y Takashima (1985) observaron que grandes dosis de Hal (10 mg/Kg i.p.) producen un incremento del metabolismo de NA en cortex frontal y tálamo. Para excluir la posibilidad de que ello sea debido al bloqueo de los receptores de NA, usaron fenoxibenzamina concomitante con Hal. Con este tratamiento combinado, se producía catalepsia de larga duración. Esto podría indicar, que el aumento del metabolismo de NA no era secundario al bloqueo de los receptores. El hecho de que el Hal, a grandes dosis, disminuya el metabolismo de DA, así como la catalépsia, sugiere recuperación de la transmisión dopaminérgica. Estos resultados indican que la hiperfunción noradrenérgica en cortex frontal y tálamo, inducida por Hal, puede reducir el efecto cataleptogénico del fármaco, via estimulación in directa de neuronas dopaminoceptivas en estriado o área mesolímbica y, además, la disminución de la transmisión dopaminérgica inducida por Hal sería compensada.

Por lo que se refiere a los efectos de los neurolepticos sobre receptores noradrenérgicos, se ha postulado que CPZ y Hal son potentes agentes bloqueantes centrales α -adrenérgicos, existiendo discrepancia sobre este tema.

Mientras que parece probable que los cambios en la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos son resultado directo del bloqueo de los receptores de DA, no se conoce si los cambios aparentes en otros sistemas receptores son cambios primarios en los propios sistemas receptores o son meramente reflejos de los cambios en la sensibilidad de los receptores de dopamina o cambios secundarios a la supersensibilidad de los receptores de DA (Perrington y col, 1983).

Se ha observado que el tratamiento crónico con Hal, produce un incremento aparente en la sensibilidad de los receptores α -adrenérgicos como respuesta a los agonistas de la actividad locomotora clonidina, apomorfina y dexanfetamina (Tarssi y Baldessarini, 1974; Dunstan y Jackson, 1976, 1978; Mithani y col., 1986).

Pazo y col. (1984), muestran que el tratamiento crónico con Hal (2 mg/Kg i.p. durante 7 días) potencia las respuestas secretoras (secreción salivar) a la L-DOPA, desarrollandose supersensibilidad tanto en los receptores de DA como en los receptores α -adrenérgicos periféricos.

Kashiba y col., (1983), han estudiado las alteraciones morfológicas de los terminales aminérgicos, que se producen por tratamiento crónico con CPZ (20 mg/Kg s.c. durante 20, 30 y 45 días). Han encontrado que se produce un aumento de estructuras sinápticas en los terminales noradrenérgicos despues de la administración crónica del fármaco en la región periventricular de hipotálamo de rata. Este fenómeno es interpretado como una supersensibilidad compensatoria en los sitios receptores inducida por el tratamiento.

Por otra parte, Perrington y col., (1983) que han estudiado los efectos de la retirada del tratamiento crónico con Hal (3 ó 4 mg/Kg durante 42 días, vía oral) en rata en su respuesta cardiovascular a la clonidina, fenilefrina y tiramina, sugieren que el tra-

tamiento crónico no produce un cambio generalizado en la sensibilidad de los receptores α - adrenérgicos.

2.2.3.- ACCION DE LOS NEUROLEPTICOS SOBRE NEUROTRASMISION SEROTONINERGICA.

Según el perfil farmacológico de los neurolepticos, solo la reserpina cuyo mecanismo de acción se basa en la liberación de monoaminas y en su deplección de las reservas cerebrales, parece tener efecto sobre este sistema neurotrasmisor, causando deplección de serotonina.

En cambio, los neurolepticos bloqueantes de receptores como Hal y CPZ no son efectivos para contrarestar los efectos centrales inducidos por serotonina, por ejemplo vía administración de 5-Hidroxitriptófano (Andén, 1971).

En cuanto a los estudios sobre los efectos de CPZ y Hal sobre síntesis y dinámica de serotonina, se ha demostrado que los tratamientos agudos en rata con CPZ no influyen en la dinámica de serotonina (Golberg y col., 1973). De igual modo, Burki y col., 1975) observaron que tratamiento agudo con Hal en ratas no influye en la dinámica de serotonina central, aunque sí disminuye su concentración, mientras que el tratamiento crónico con dicho neuroleptico induce un incremento en la dinámica de serotonina (Stralendorf y col., 1976).

Sin embargo, Pollard y col. (1975) han encontrado que CPZ (10^{-5} M) inhibe selectiva y competitivamente la captura de serotonina en sinaptosomas del lóbulo óptico de calamar, proponiendo que CPZ actúa sobre el mecanismo de penetración de las monoaminas o que, CPZ, una molécula altamente hidrofóbica, puede tener afinidad por regiones muy apegadas a la membrana y/o del receptor. Pero es-

to requiere mas investigaciones encaminadas al aislamiento y carac
terización de los posibles receptores de CPZ en sinaptosomas.

En cuanto a las alteraciones producidas por los neurolépticos (CPZ) en el metabolismo de serotonina central, han sido discutidas en rata, en relación a otros parámetros (aislamiento, temperatura corporal), sin haberse encontrado una correlacion uniforme entre el aislamiento y los cambios inducidos por CPZ en la tempera
tura corporal y el metabolismo de serotonina (Goldberg y col., 1973)

También se ha intentado poner de manifiesto la acción de los neurolépticos sobre los receptores de serotonina. Los sistemas nigroestriatal y mesolímbico dopaminérgicos (de gran importancia en el control del movimiento y la locomoción) tienen sus cuerpos celu
lares localizados en la sustancia negra (A9) y el área ventral teg
mental (A10) respectivamente. Ambas estructuras reciben ascendentes serotoninérgicos (originados en el núcleo del rafe mesencefáli
co). Como consecuencia del tratamiento crónico con neurolépticos, se desarrolla un síndrome hiperkinético, debido a una supersensibilidad en los receptores de DA, que implica primariamente a los sistemas dopaminérgicos estriatal y límbico, pero además parece ser que los receptores de serotonina se hacen supersensibles como compensación a los cambios en el sistema dopaminérgico. Esto podria ser debido a un efecto directo del tracto dopaminérgico sobre la vía serotoninérgica ó sobre las sinapsis en estriado (Muller y Seeman, 1977). La implicación de la serotonina en el incremento de la actividad locomotora ya habia sido apuntada por Smith y Davis (1976).

Seeman (1981), propuso una acción antagonizante de los neurolépticos sobre los receptores de serotonina. Basándose en este he
cho, Dinan y Aston-Jones (1984), en su estudio sobre los efectos del tratamiento agudo con Hal en la actividad celular del locus coeru-

leus, como posible sitio de acción de la depresión inducida por los neurolépticos y de su implicación en los sistemas centrales noradrenérgicos, especulan sobre la existencia de un sitio de acción no dopaminérgico del Hal en el locus coeruleus, por bloqueo de los receptores de serotonina, ya que este núcleo recibe entradas serotoninérgicas que inhiben su descarga.

Le Fur y col (1980) describieron sitios de unión serotoninérgica dependientes para los neurolepticos en cortex de rata y Mikuni y Meltzer (1983) mostraron una disminución en los sitios de unión 5-HT₂ en cortex como consecuencia del tratamiento subcrónico con CPZ. Ya que el efecto de los antidepresivos sobre la densidad de receptores de aminas, es un factor crucial en su modo de acción, la CPZ en este sentido tendría una acción antidepresiva independiente.

Beleslin y col. (1985) han estudiado los fenómenos motores, autónomos y de conducta emocional que aparecen en gato, como consecuencia de inyecciones intracerebroventriculares de neurolepticos. Sus resultados implican primariamente a los receptores dopaminérgicos D-1 y D-2 pero no por ello excluyen una acción de estos fármacos sobre los receptores centrales noradrenérgicos y serotoninérgicos.

2.2.4.- ACCION DE LOS NEUROLEPTICOS SOBRE NEUOTRASMISION COLINERGICA.

Las técnicas y métodos de estudio sobre el mecanismo de acción de los neurolépticos en este sistema neurotrasmisor son diversas. Los estudios de Stadler y col., (1973) proveen la primera prueba directa de que los neurolepticos (CPZ) activan probablemente vía bloqueo de receptores de dopamina un sistema colinérgico

en estriado, con el consiguiente aumento de la dinámica de ACh. El mecanismo por el cual se produce, ha llevado a estos autores a especular que la vía dopaminérgica nigroestriatal modula la actividad y posiblemente la función de las neuronas colinérgicas con una influencia inhibitoria presináptica. La supresión de esta inhibición por los neurolepticos produciria una aumento de la actividad neuronal colinérgica y de la dinámica de la ACh. Todos estos resultados no son consistentes con la simple idea de dos sistemas antagonistas independientes regulando la actividad de una neurona diana común en estriado, sugiriendose la existencia en esta estructura de una red neuronal dopaminérgico-colinérgica interdependiente y posiblemente implicada en la neurogénesis de los efectos secundarios extrapiramidales. Trabucchi y col. (1974) obtuvieron resultados similares a los anteriores en estriado y cortex occipital, concluyendo que estas sustancias afectan a algún mecanismo neuronal implicado en el control de la síntesis de ACh, y que es más significativo en estriado que en cortex. Para estos autores, el aumento de la síntesis de ACh estriatal por CPZ no es debido al bloqueo sobre los receptores colinérgicos ni a la acción anticolinesterasa de CPZ (Snyder, 1974), sino a un aumento en la actividad de las neuronas colinérgicas, pero esta última cuestión solo se ha estudiado indirectamente. Por último, corroboraron que el aumento de biosíntesis de ACh estriatal se relaciona con los efectos secundarios extrapiramidales de los neurolepticos que con sus propiedades antipsicóticas (Haubrich y col., 1975).

Sin embargo, Wauquier y col. (1975) y Wauquier y Niemegeers (1975) observaron una disminución en la eficacia terapéutica de los neurolepticos cuando se administraban junto con anticolinérgicos, por lo que sugieren que la interacción a nivel estriatal no sólo

está implicada en los efectos neurológicos secundarios sino también en la actividad antipsicótica neuroléptica. Esto es una variación de la idea de que los receptores para DA del sistema mesolímbico son los sitios exclusivos para la actividad antipsicótica por tratamiento neuroléptico (Snyder, 1974). Igualmente, proponen que la inhibición de la transmisión colinérgica por los anticolinérgicos es la base de su interacción con los neurolépticos. Como la mayoría de los anticolinérgicos también inhiben la captura neuronal de DA, es probable que la potenciación de la acción de DA que resulta de la inhibición de captura, domine sobre el bloqueo de receptores de DA causado por los neurolépticos. Estos resultados fueron corroborados por Carvey y col., (1986) y por Huang y col., (1986).

No está claro si los efectos centrales (visión, constipación, sequedad de boca, dificultades de micción) producidos por CPZ son debidos a una acción directa sobre las vías colinérgicas o son secundarios a su influencia sobre otros sistemas de vías (por ejemplo el sistema dopaminérgico). Por ello, Argov y Yaari (1979) estudiaron la acción del CPZ sobre la transmisión sináptica en la sinápsis neuromuscular de rana, un sistema puramente colinérgico en donde las acciones del fármaco sobre liberación de ACh y su acción postsináptica pueden ser determinadas directamente. Observaron que CPZ a baja concentración (5×10^{-6} M) influye directamente la liberación de ACh desde los terminales nerviosos presinápticos, y su interacción con la membrana postsináptica. Según estos autores, la CPZ interacciona específicamente con la membrana postsináptica por bloqueo directo del receptor, mientras que los efectos presinápticos de CPZ son atribuidos a la inhibición del transporte del ión calcio a través de la membrana, tanto a los sitios extracelulares como intracelulares, disminuyendo la liberación del trasmis

sor provocada neuralmente. Estos efectos pueden contribuir al bloqueo de las vías colinérgicas centrales y a determinar la extensión de los efectos secundarios extrapiramidales de las fenotiacinas.

Sin relación con lo anterior Gianutsos y Lal, (1976), sugieren que como resultado del tratamiento crónico con Hal en estriado se desarrolla una supersensibilidad dopaminérgica y una hiposensibilidad colinérgica. Proponen que la continua liberación de ACh durante el tratamiento, podría producir una disminución en la sensibilidad del receptor como mecanismo adaptativo. Sin embargo, Miller y Fiedhoff (1979), estudiando los efectos de la supersensibilidad dopaminérgica sobre la actividad colinérgica estriatal observaron que la supersensibilidad dopaminérgica que resultaba del bloqueo crónico de los receptores de DA, producía un incremento de la sensibilidad de la función de liberación colinérgica por el efecto inhibitorio de DA. Esta acción puede ser un factor adicional mediador en ciertos desórdenes del movimiento encontrados después del tratamiento crónico con neurolépticos.

Más recientemente, Fage y col., (1984) han observado que las lesiones de la vía dopaminérgica nigroestriatal tiene efectos limitados sobre los niveles basales de ACh estriatal, pero induce una supersensibilidad de las células colinérgicas estriatales. El tiempo de duración de este fenómeno es cercanamente paralelo al de aparición de las respuestas supersensibles electrofisiológicas y de comportamiento, observadas por estimulación de los receptores de DA, pero difiere claramente del tiempo de aparición del incremento en la densidad de sitios de unión de DA. Esto se puede atribuir a la presencia de receptores de DA disponibles que disfrazan el aumento del número de receptores de DA funcionales.

Alternativamente, esto puede indicar que la supersensibilidad de las células colinérgicas estriatales no están causalmente interrelacionadas con el aumento de sitios de unión de DA y que otros componentes del sistema, determinantes de la respuesta supersensible de esas células (por ejemplo: mecanismos de acoplamiento entre el sitio de reconocimiento de DA y la respuesta fisiológica de la célula efectora) pueden ser cambiados por la lesión de la vía dopaminérgica nigroestriatal.

2.2.5.- ACCION DE LOS NEUROLEPTICOS SOBRE NEUROTRANSMISION AMINO-ACIDERGICA.

No se han estudiado en profundidad las acciones de los neurolepticos sobre los sistemas neurotransmisores aminoacidérgicos. Sin embargo, existen algunos estudios que ponen de manifiesto efectos sobre estos sistemas, especialmente gabaérgicos.

En 1967 Janssen, observó que el Hal podía actuar mimetizando los efectos del GABA y bloqueando la acción del Acido glutámico particularmente en los sistemas extrapiramidales, pero no han aparecido en la literatura científica más datos sobre el efecto del Hal en el metabolismo del GABA en los sistemas extrapiramidales. La mayoría de las investigaciones sobre la acción de los neurolepticos se han centrado en el metabolismo de catecolaminas. sólo han aparecido evidencias en la literatura de que las fibras gabaérgicas estriato-nigrales pueden estar implicadas en el efecto inhibitorio del Hal sobre las vías dopaminérgicas del núcleo caudado (Kim y col. 1971; Kataota y col., 1974). Años más tarde, Kim y Hassler (1975) estudiaron los efectos del Hal sobre el sistema gabaérgico en estriado y sustancia negra y las posibles interacciones entre GABA y DA. Observaron que el Hal producía una disminución de los niveles

de GABA en estriado y sustancia negra, mientras no se producían cambios en las actividades enzimáticas GAD y GABA-T en estas zonas. Estos efectos también fueron observados por Collin (1973). Estos autores llegaron a la conclusión de que la disminución de GABA inducida por Hal en las neuronas estriato-nigrales puede producir una disminución de la inhibición de las neuronas dopaminérgicas nigro-estriatales, aumentando la dinámica de DA e incrementando los niveles de HVA en estriado. Esta teoría está apoyada por los hallazgos de Lahti y Losey (1974) de que el pretratamiento con ác. aminooxacético bloquean la elevación de HVA producida por CPZ.

Por otra parte, Marco y col. (1976), encontraron que los antipsicóticos cataleptogénicos como CPZ y Hal. no disminuyen la dinámica de GABA en la sustancia negra y núcleo caudado, mientras que la clozapina (antipsicótico no cataleptogénico) sí tiene estos efectos por lo que especularon con la posibilidad de que las acciones GABA-miméticas de los neurolépticos, podrían explicar sus acciones cataleptogénicas. Estos datos fueron confirmados por Maggi y col. (1977).

Se ha propuesto, así mismo que Hal. puede facilitar la actividad de las neuronas gabaérgicas de axon largo que se proyectan desde el núcleo caudado al núcleo accumbens y al globus pálido (Pycock y Horton 1976). Las observaciones de Marco y col (1976) de que Hal. disminuye la dinámica de GABA en el globus pálido y núcleo accumbens, apoyan esta idea. Si las neuronas gabaérgicas que se proyectan desde el núcleo accumbens al globus pálido están -inervadas por terminales dopaminérgicos, y como DA ejerce un control de tipo inhibitorio, el bloqueo de este control por acción del Hal, podría provocar un incremento en la actividad de estas neuronas gabaérgicas.

Teniendo en cuenta estos hechos, Mao y col., (1977) estu-

diaron qué cambios de la dinámica del GABA están relacionados con los efectos antipsicóticos del Hal en tratamientos prolongados. Encontraron que la reducción de la dinámica del GABA en el núcleo accubens es mayor en tratamiento prolongado que con una única dosis, no produciéndose desarrollo de tolerancia. También observaron un aumento de la dinámica del GABA en el globus pálidus o sustancia negra. Estos autores apuntaron la posibilidad de que la disminución de la dinámica del GABA causada por Hal en el núcleo accumbens seria un indice de su eficacia antipsicótica. Como este efecto persiste con tratamientos prolongados, cuando se ha establecido tolerancia a los cambios en la dinámica de DA, se podría cuestionar si el bloqueo de receptores dopaminérgicos es el único factor operativo que interviene en los efectos de los neurolépticos sobre la dinámica del GABA.

Los estudios de los efectos de los neurolepticos sobre sistemas neurotransmisores glutamatérgicos no son muy abundantes. Existen algunos estudios que demuestran que los neurolepticos disminuyen los niveles de glutamato cerebrales (Collins, 1973 y Michalek y col., 1980) y aumentan su recaptación (Faeder y col., 1974), pero es difícil establecer el significado funcional de estos hallazgos.

Algunos estudios han demostrado que los antagonistas del glutamato, administrados directamente en la amígdala, mimetizan algunas de las acciones de los neurolepticos (Sherman y Mott, 1984). Estos autores, también encontraron que cuando se añaden neurolepticos a sinaptosomas de la amígdala, disminuye la liberación calcio dependiente del ácido glutámico endógeno y de ^3H -glutamato procedente de ^3H -glutamina. Estos hechos sugieren que los neurolepticos disminuyen la hidrólisis de glutamina via glutaminasa. Pero también podría ocurrir que estos fármacos afectasen a la conversión de glutamato en α -cetoglutarato o GABA. En cualquier caso, existe una re

lación entre los efectos de los neurolépticos sobre metabolismo y dinámica del glutamato y sus acciones sobre la transmisión dopamínica. Recientemente se ha demostrado el papel del glutamato como modulador de la liberación de DA. En cortex de estriado, el glutamato aumenta la liberación de DA (Roberts y Sharif, 1978), efecto que no tiene lugar cuando se producen lesiones del estriado por acción del ácido kaínico (Roberst y Anderson, 1979). También se ha encontrado que la DA y sus agonistas disminuyen la liberación (Rowlands y Roberts, 1980b, Mitchell y Doggett, 1980) y la recaptación de alta afinidad de glutamato (Nieoullon y col., 1982).

2.3.- ALTERACIONES MORFOLOGICAS PRODUCIDAS POR NEUROLEPTICOS

Los prolongados efectos de la medicación antipsicótica observados en clínica (tiempo necesario para el desarrollo del efecto antipsicótico; diskinesia tardia, etc...), inducen a la investigación, a nivel morfológico de las posibles alteraciones estructurales en cerebro, así como de sus relaciones con los efectos bioquímicos y farmacológicos observados.

En este sentido, Benes y col., (1983), realizaron un estudio morfométrico de las conexiones sinápticas en sustancia negra en ratas tratadas crónicamente con Hal (3 mg/Kg i.p. durante 16 semanas). El análisis al microscopio electrónico revelaba un aumento en el número de terminales axodendríticos en los animales tratados. Parece ser que este efecto es un reflejo de las acciones farmacogénicas del Hal, y es paralelo al desarrollo de tolerancia a sus efectos neurológicos. Estudios de comportamiento en estos mismos animales, revelaban tolerancia a los efectos catalépticos y ptóticos (sedativos) del Hal con el tiempo (entre 3 y 4 semanas de iniciado el tratamiento), confirmando los resultados de Campbell y Baldessarini, (1981).

Benes y col. (1985a) realizaron otro estudio del mismo tipo pero en las sinapsis de estriado, en donde las alteraciones estructurales observadas difieren sorprendentemente de las encontradas en sustancia negra. No aparecen cambios en el número de terminales axónicos sino un aumento de tamaño en los mismos con concomitante incremento en el número de vesículas sinápticas. Este cambio estructural podría ser el equivalente morfológico a los cambios bioquímicos y farmacológicos que se producen en estriado por tratamiento crónico con neurolepticos. Se discuten estos cambios producidos por Hal en relación a los niveles estriatales de otros posibles neurotransmisores (ACh, GABA, sustancia P, etc...) pero, en la actualidad poco se conoce al respecto. (Bannon y col 1986; Arima y col. 1986). Estos mismos autores (1985b) utilizando siempre el mismo tratamiento y durante el mismo periodo de tiempo, han investigado las alteraciones estructurales producidas por tratamiento crónico con Hal en las sinapsis del cortex prefrontal de rata, que es inervado por el área ventral tegmental (A10), concretamente en la capa VI (MPF-VI). La complejidad del cortex y el hecho de que reciba una entrada de DA con propiedades farmacológicas diferentes al estriado podría resultar en un modelo de alteración sináptica diferente. En efecto, en este área en que la dinámica de DA apenas cambia en respuesta al tratamiento crónico con Hal, no aparecen diferencias ni en el tamaño de los terminales axónicos ni en el contenido de vesículas.

3.- FINES Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

Los neurolepticos ejercen efectos beneficiosos sobre síntomas psicóticos y bloquean los efectos de las anfetaminas (Carlson y Lindquist, 1963; Van Praag, 1977). Por ello son utilizados en el tratamiento de pacientes esquizofrénicos, así como en pacientes drogo-dependientes con manifestaciones psicóticas. Sus propiedades terapéuticas se deben al bloqueo de los receptores de DA; sin embargo, a esta acción también se deben las acciones terapéuticas secundarias. Además, tienen efectos sobre otros receptores (adrenérgicos colinérgicos, aminoacidérgicos) por lo que sus efectos terapéuticos y secundarios (producidos tanto durante el tratamiento como tras la retirada del mismo) son problemáticamente explicados.

Exste una amplia documentación en la literatura científica sobre el (los) mecanismo (s) de acción de los neurolépticos en la neurotransmisión aminérgica (ver parte teórica). Por otro lado, se sabe que los neurolépticos actuan sobre otros sistemas neurotransmisores (Colinérgicos y aminoacidérgicos), sin haberse llegado a concluir si estas acciones son directas o de tipo indirecto, sobre todo, cuando se emplean en tratamientos a largo plazo. No existen muchas publicaciones al respecto, especialmente tras la demostración de la toxicidad de la CPZ (Hepatotoxicidad e inhibición de la división celular principalmente). Sin embargo en clínica muchos enfermos son tratados en plazos sumamente prolongados sin existir controles muy profundos.

Teniendo en cuenta estos hechos, nos hemos planteado un estudio a nivel bioquímico sobre los efectos del tratamiento crónico a largo plazo con CPZ (representativo de las fenotiazinas) y

HAL (representativo de las butirofenonas) sobre algunos sistemas neurotransmisores no aminérgicos en diferentes regiones anatomo-embriológicas en que podemos dividir el SNC (cerebelo, telencéfalo, troncoencéfalo y diencéfalo).

Hemos elegido para nuestro estudio a largo plazo diversos parámetros como marcadores funcionales: ox-NADH y SDH que nos pueden indicar las variaciones de la oxidación mitocondrial (aun contando con la oxidación de NADH extramitocondrial); GDH y AAT como enzimas relacionadas con la transmisión aminoacidérgica (por Glu y GABA); AChE relacionada con la transmisión colinérgica y MAO relacionada con la transmisión aminérgica. Aún a sabiendas de las diferencias que pueden existir entre cada uno de los núcleos grises del SNC, hemos elegido una región, el cerebelo, que sin poseer un sistema neurotransmisor aminérgico definido en sus cadenas neuronales (pero sí diversos aminoacidérgicos), sí participa en las "inervaciones" difusas troncoencefálicas y puede darnos una idea general sobre las alteraciones morfológicas a nivel de la M.E. (a nivel de la M.O. no es posible detectar cambios). Además, se posee en el equipo en que me he integrado una amplia información sobre la involución senil y patológica del cerebelo.

PARTE EXPERIMENTAL
=====

4.- MATERIAL Y METODOS

4.1.- MATERIAL BIOLOGICO

Se ha empleado rata blanca Wistar. El número total de animales fué de 150, 120 hembras y 30 machos adultos, de una de 10-12 semanas al inicio del tratamiento. Estos animales fueron sometidos a tratamiento con diferentes neurolepticos (CPZ y Hal); para ello, se distribuyeron en diferentes lotes según la sustancia terapéutica utilizada o el tratamiento control, y se agruparon en número de 4-6 animales por jaula. Los animales, su distribución y su tratamiento se especifican a continuación. Se han utilizado una media de 5 animales tratados por cada lote y de tres animales control por determinación bioquímica.

Pautas de tratamiento

a) Tratamiento crónico con clorpromazina

Los animales adultos (de 2,5-3 meses de edad al comienzo del tratamiento) fueron sometidos a una dosis diaria de 2 mg/Kg, vía intramuscular y durante un periodo máximo de tres meses (hasta 8,5-9 meses de vida).

Se sacrificaron los animales para su estudio a las 4, 5, 8, 9, 10, 18, 20 y 24 semanas de tratamiento. También se realizaron estudios de recuperación a las 10, 12, 16, 28, 32 y 34 semanas después de la retirada del fármaco tras 6 meses de tratamiento. El número total de animales fué de 60.

b) Tratamiento crónico con Haloperidol

Animales adultos (de tres meses de edad al inicio del tratamiento) fueron sometidos a dosis diarias de 2mg/Kg de Hal via intramuscular y durante un período máximo de 6 meses (hasta los 9 meses de vida). Se han sacrificado animales para su estudio a las 4, 5, 8, 9 10, 12, 18, 20 y 24 semanas de tratamiento. Así mismo se

llevaron a cabo estudios de recuperación a las 10, 12, 16, 28, 32 y 34 semanas después de la retirada del tratamiento. El número total de animales fué de 60.

Durante todo el período de tratamiento se realizó en todos los animales un control semanal de peso; así mismo los animales - controles fueron inyectados diariamente con suero salino (9/1000) y recibieron una dieta alimentaria cualitativamente igual a la de los animales tratados.

Muestras Biológicas empleadas

De los animales utilizados para los estudios bioquímicos se obtuvieron en fresco diferentes partes del encéfalo por división del mismo (esquema 1): cerebelo, troncoencéfalo,* teleencéfalo, y diencéfalo.

Para los estudios morfológicos, las muestras se obtuvieron por perfusión.

4.2.- METODOS BIOQUIMICOS

4.2.1.- OBTENCION Y PREPARACION DE MUESTRAS PARA EL ANALISIS BIOQUIMICO.

Los animales fueron sacrificados por decapitación con guillotina. Se les extrajo el encéfalo rápidamente en cámara fría o sobre hielo (0-4°C), desprendiendo las cubiertas meníngeas y lavando con sacarosa 0,32 M a la temperatura anterior. Se pesaron las muestras, se fragmentaron en trozos adecuados para su homogenización y se suspendieron en sacarosa 0,32 M en dilución 1/20 P/V.

4.2.2.- HOMOGENIZACION DEL TEJIDO

Se llevó a cabo en dos fases: a) En primer lugar se sometieo

ron las muestras a la acción de un homogenizador mecánico Ommi-Mixer (Sorwall) durante un tiempo total de 10 min con intervalos de 5 seg cada 15 seg, a temperatura de 0-4°C. b) A continuación se trataron las muestras con un homogenizador de vidrio (Potter) accionado a mano, con una diferencia de diámetro entre cilindros de 0,15 mm aproximadamente. Esta segunda homogenización se realizó sobre una mezcla de agua y hielo y consistió en 30 ciclos completos. Las muestras homogenadas se conservaron en un baño de agua y hielo.

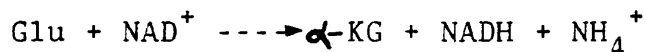
4.2.3.- SONICACION

Los homogenados fueron sonicados para disgregar estructuras subcelulares y producir suspensiones más estables. Se utilizó un sonicador modelo Sonifer B-12 (Branson Sonic Power). En todos los casos el proceso que se siguió fué: se introdujo el vástago del sonicador en tubos previamente enfriados, conteniendo fracciones de 3 ml de homogenado y mantenidos casi totalmente sumergidos en una mezcla de agua y hielo. El tiempo total de sonicación para cada homogenado fué de 90 segundos repartidos en dos fases de 45 segundos con un intervalo de 15 segundos sin sonicar. En estas condiciones la solubilización de enzimas mitocondriales es máxima con una mínima desnaturalización enzimática (Toledano 1970). Dada la importancia del componente geométrico en la acción de las ondas ultrasónicas se utilizaron en todos los casos tubos de la misma forma y capacidad, introduciéndolo siempre el vástago a la misma profundidad, (5 mm aproximadamente dentro de la muestra). Las muestras sonicadas se mantuvieron en baño de agua y hielo.

4.2.4. ENSAYOS ENZIMATICOS

4.2.4.1.- Determinación de Glutamato deshidrogenasa (GDH)

La actividad GDH fué determinada según el método de Strecker (1955), siguiendo el aumento de densidad óptica a 340 mili micras producido por la formación de NADH en la reacción:



La técnica original fué modificada en relación al pH del tampón utilizado (7,5). En un volumen final de 3 ml, el medio de incubación contenía, además de 3 ml de muestra 1/20 P/V, los siguientes reactivos a las concentraciones que se detallan:

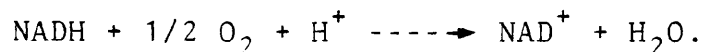
NAD⁺3mM
Tampón Fosfato 0,5 M pH 7,583,3 mM
Glutamato33,3 mM
CNK1 mM

El blanco de reacción contenía tampón y NAD a la misma concentración y 0,3 ml de muestra en el mismo volumen final de 3 ml.

Se desencadenó la reacción por adición de Glu, y se siguió el incremento de DO en un espectrofotómetro de registro continuo Perkin Elmer 402 durante 3 min. El coeficiente de extinción molar para NADH a 340 nm es de $6.22. \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$

4.2.4.2.- Determinación de oxidación de NADH

La actividad NADH oxidasa se determinó por la disminución de DO a 340 nm debida a la desaparición de NADH según la reacción:



Se empleó 0,1 ml de muestra, dilución 1/20 P/V. La cubeta de reacción contenía en un volumen final de 3 ml, los siguientes reac-

tivos:

NADH.....0,13 mM

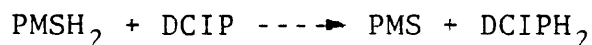
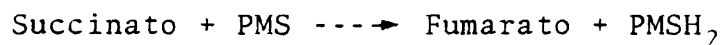
Tampón Fosfato 0,5 M pH 7,5.....80 mM

El blanco de reacción contenía tampón y muestra en un volumen final de 3 ml.

La reacción se desencadenó por adición de NADH, y se registró la disminución de DO durante 3 min espectrofotométricamente a 340 nm.

4.2.4.3.- Determinación de la actividad Succinato deshidrogenasa (SDH)

La actividad SDH se midió empleando la técnica de King (1963, 1967) modificada. Se utilizó fenazina metasulfato (PMS) como aceptor de electrones, acoplando la reducción de 2,6, diclorofenol indofenol por el PMSH_2 producido en la oxidación del succinato, de acuerdo con el siguiente esquema:



Cada mol de DCIP reducido equivale a un mol de succinato oxidado y es seguido espectrofotométricamente a 600 nm.

Se utilizó 0,1 ml de muestra, dilución 1/20 P/V en un volumen final de 3 ml, que contenía los siguientes reactivos:

Succinato.....33,3 mM

Tampón fosfato 0,5 mM pH 7,5.....80 mM

CNK.....1 mM

Fenazina metosulfato.....1 mM

2,6, diclorofenol indofenol.....0,033 mM

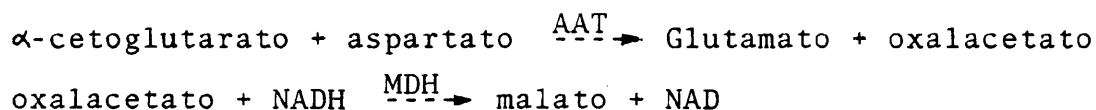
El blanco de reacción contenía tampón, cianuro y 0,1 ml de muestra en un volumen final de 3 ml. Se desencadenó la reacción

por adición de PMS y DCIP y se siguió espectrofotométricamente a 600 nm. El coeficiente de extinción molar para el DCIP a 600 nm es $21,9 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

4.2.4.4. DETERMINACION DE ASPARTATO AMINO TRANSFERASA (AAT)

Se empleó el método de Karmen modificado por Petronio y col. (1960).

La actividad AAT se determinó siguiendo espectrofotométricamente la desaparición de NADH debido a la reacción acoplada de oxalacetato producido y catalizada por malato deshidrogenasa. La secuencia de reacción que tiene lugar es la siguiente:



Se utilizó 0,02 ml de muestra, dilución 1/20 P/V, en un volumen final de 3 ml, que contenía los siguientes reactivos a las concentraciones que se detallan:

Tampón Fosfato 0,5 M pH 7,4.....	83,3 mM
L-Aspartato (Na).....	33,3 mM
Malato deshidrogenasa.....	actividad suficiente para metabolizar en 30 seg. todo el NAD posible formado.
NADH.....	0,13 mM
CNK.....	1 mM
α -KG.....	6,5 mM

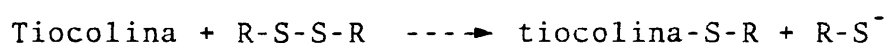
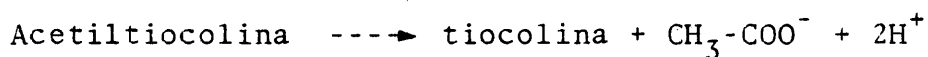
El blanco de reacción contenía muestra de tejido, tampón, aspartato, MDH, NADH y cianuro en un volumen final de 3 ml.

La reacción se desencadenó por adición de α -KG y se siguió espectrofotométricamente a 340 nm. El coeficiente de extinción mo-

lar de NADH para esta longitud de onda es $6,22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

4.2.4.5.- DETERMINACION DE ACETILCOLINESTERASA (AChE)

La actividad hidrolítica de AChE se midió según el método de Elman (1961), modificado por Jackson y Aprison (1966). Se siguió espectrofotométricamente el incremento de DO a 412 nm, producido por la reacción de tiocolina con DTNB (5,5' ditiobis (2) nitrobenzoato). Las reacciones que se producen son:



Se utilizaron ésteres de tiocolina porque dan reacción coloreada y son análogos a los substratos naturales , dado resultados similares de hidrólisis (Eranko 1973).

Para el ensayo se emplearon 0,05 ml de homogenado de tejido, dilución 1/20 P/V. Se incubó durante 5 min a temperatura ambiente con los siguientes reactivos (Toledano y Martinez, 1972):

Tampón Fosfato 0,2 M pH 8.....94,6 mM

DTNB.....0,315 mM

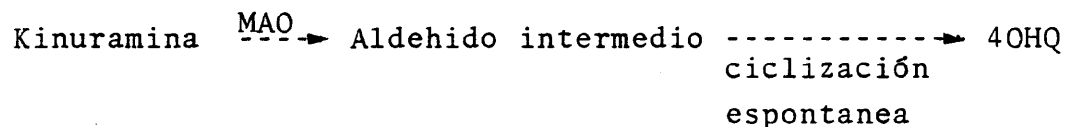
Se siguió espectrofotométricamente la reacción inespecífica del DTNB frente a un blanco de reacción conteniendo agua y tampón en un volumen final de 3 ml. Posteriormente se añadió ioduro de acetiltiocolina para obtener una concentración final de 1,58 mM y un volumen final de 3,17 ml. Se siguió la reacción enzimática durante 3 min a 412 nm. El coeficiente de extinción molar para el DTNB a 412 nm es $4,29 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

4.2.4.6.-DETERMINACION DE MONOAMINO OXIDASA (MAO)

La actividad MAO se determinó siguiendo el método fluorimé-

trico descrito por Krajl (1965).

Empleando como sustrato de la reacción kinuramina, se midió la cantidad de 4-hidroxiquinolina (4-OHQ) formada por la ciclización espontánea del aldehído intermedio originado en la desaminación oxidativa de kinuramina.



A una longitud de onda de activación de 315 nm, 4-OHQ produce una fluorescencia máxima a 380 nm.

El medio de incubación contenía:

Muestra de homogenado de tejido (1/20 P/V).....1ml
dihidroxibromuro de kinuramina.....0,1 mM
Tampón fosfato 0,5 M pH 7,4.....83,3 mM
H₂O.....c.s.p 3ml

Después de incubar a 37°C durante 30 min, se añadieron 2ml de ácido tricloroacético al 10% para detener la reacción y producir la precipitación de proteínas, que fueron eliminadas por centrifugación a 5.000 r.p.m. durante 10 min. Se tomó 1 ml del sobrenadante y se llevó a una cubeta de cuarzo que contenía 2 ml de NaOH 1 N. La intensidad de fluorescencia de la solución fue medida en un espectrofluorímetro JASCO FP-550 a longitud de onda de excitación de 315 nm y de emisión de 380 nm. Se prepararon estándares de concentraciones conocidas de 4OHQ, que fueron sometidas al mismo procedimiento que las muestras y se midió su fluorescencia en las mismas condiciones. Mediante una recta de calibrado, obtenida determinando la fluorescencia de soluciones idénticas, pero con cantidades conocidas de 4-HOQ, se conoció la cantidad de 4-OHQ formada.

4.2.5. DETERMINACION DE PROTEINAS

Se determinó la concentración de proteínas en todos los homogenizados de tejido utilizando el método de Lowry y col.(1951) y como patrón se empleó seroalbumine bovine (Sigma).

4.2.6. EXPRESION DE ACTIVIDADES ENZIMATICAS

Los resultados obtenidos de las determinaciones espectrofotométricas y fluorimétricas de las actividades enzimáticas se expresan en mumoles consumidos por minuto y por mg. de tejido fresco y en mumoles consumidos por minuto por mg. de proteína del tejido.

4.3. METODOS HISTOLOGICOS PARA M.E.

4.3.1. OBTENCION Y PREPARACION DE MUESTRAS. FIJACION.

La fijación del material biológico fue realizada por perfusión. La solución fijadora consistió en 9 partes de tampón Millonig 0,1M pH 7,5 por 1 parte de glutaraldehído al 25%. El tampón Millonig se preparó mezclando 41,5 c.c. de solución de fosfato monosódico al 2,26% y 8,5 c.c. de solución de hidróxido sódico al 2,52%. A esta mezcla se añadió 0,5 c.c. de cloruro sódico para reforzar membranas. Se obtiene de esta manera una concentración final de 2,5% de glutaraldehído en tampón Millonig.

Hemos seguido las pautas descritas por Carrato(1966) de perfusión vascular para la fijación del encéfalo. Realizada la perfusión del animal, se extrajo el encéfalo por craneotomía anterior, cuidando de bañar con fijador las zonas que van quedando expuestas. Una vez extraído el encéfalo y previo desprendimiento de las cubiertas meningeas, se introdujo en un baño del mismo líquido fijador durante una hora a una temperatura de 4°C. Posteriormente se extra-

jeron para su estudio, bloques cúbicos de 1 mm - 0,5 mm aproximadamente de vermis de cerebelo. El material ya troceado se sumergió en tampón de lavado durante una hora. Este tampón fue el mismo que se empleó en la preparación de la solución fijadora.

4.3.2. POST-FIJACION

A continuación se realizó un nuevo proceso de fijación que tiene por objeto aumentar la densidad de las muestras al paso del haz de electrones del Microscopio. Durante 1-2 horas se sometió el material a la acción de una solución de tetróxido de osmio al 1% en tampón Millonig 0,1M pH 7,5 a una temperatura constante de 4°C. Al finalizar la post-fijación se efectuó un nuevo lavado con el tampón correspondiente.

4.3.3. INCLUSION

Una vez terminado el proceso de fijación, se inició la inclusión de las piezas, proceso que tiene lugar en varias fases:

a) Deshidratación:

Se efectuó por sucesivos pasos de concentraciones crecientes de acetona en agua destilada:

- | | | | | |
|----|---------|-------------------------|-------|--------------|
| 1) | Acetona | 30% | | 15 min. |
| 2) | " | 50% | | 30 min. |
| 3) | " | 70% | | 30 min. |
| 4) | " | 70% + contraste | | 12 horas |
| 5) | " | 90% | | 30 min. |
| 6) | " | 100% | | 30 min. |
| 7) | " | 100% + Sulfato de Cobre | | 30 min. |
| 8) | " | " | " |30 min. |

El contraste consistió en una solución saturada de acetato de uranilo al 2% en acetona al 70%. Proporciona mayor contraste a las membranas del tejido.

b) Inclusión:

Las muestras fueron sometidas a los siguiente reactivos:

- 1) Oxido de Propileno1 hora
- 2) " "1 hora
- 3) " " + Araldita I (3:1).....1 hora
- 4) " " + " (2:2).....2 horas
- 5) " " + " (1:3).....2 horas
- 6) Araldita I12 horas
- 7) "1 hora
- 8) Araldita II1 hora
- 9) "45 min.

Hasta el 5) paso el proceso se efectuó a refrigeración constante de 1-4°C y a partir de él, las muestras se mantuvieron en agitación y en estufa a 50°C.

Las Aralditas (Durcopan, Ciba-Geigy) se obtienen a partir de cuatro componentes, que son mezclados en las proporciones y orden indicados en el siguiente cuadro:

<u>Compo- nente</u>	<u>Color Distintivo</u>	<u>Producto</u>	<u>Proporciones (ml)</u>	
			<u>Araldita I</u>	<u>Araldita II</u>
B	Azul	Endurecedor	10	10
C	Amarillo	Acelerador	--	0,4
D	Verde	Plastificador	0,15	0,15
A/M	Rojo	Resina Epoxi	10	10

c) Endurecimiento de la inclusión:

Las piezas de material biológico se incluyeron en cápsulas de gelatina, que previamente habían sido desecadas por calor en estufa, en la que se mantuvieron tres días a 37°C, y a 70°C una hora antes de ser utilizadas.

Las muestras se colocaron en el fondo de las cápsulas, y estas fueron rellenas de Araldita II. Las cápsulas así preparadas

se introdujeron en estufa a 70°C y se mantuvieron en ella durante tres días. Al cabo de este tiempo los bloques de inclusión presentaron una dureza idéntica a la del metacrilato.

4.2.4.- OBSERVACION AL M.E. Y MICROFOTOGRAFIA

De los bloques incluidos se obtuvieron cortes ultrafinos de 400-600 Å de grosor con un ultramicrotomo Reichert OMV-2. Estos cortes se sometieron a una tinción complementaria con citrato de plomo (Reynolds, 1963). La observación y microfotografía se realizó en un microscopio electrónico JEOL 100B.

4.4.- ESTUDIOS ESTADISTICOS REALIZADOS

Se ha calculado la media y la desviación standard de los valores de pesos obtenidos semanalmente en cada uno de los lotes de animales: tratados y control, aplicando posteriormente el test de Student para comparar las variaciones ponderales obtenidas con respecto al control..

Tambien se ha realizado un estudio estadístico en las determinaciones bioquímicas, con objeto de determinar si los valores obtenidos, reflejan la efectividad del tratamiento. En cada punto de las gráficas de actividad, se ha calculado la media y la desviación estándar de una muestra de tamaño tres (por término medio).

En la valoración de lo significativo de los resultados, se ha realizado un test de Student, procedimiento que en algún caso y para un tamaño muestral tan reducido, no es suficientemente eficaz.

RESULTADOS

=====

5. RESULTADOS.

5.1. CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS ANIMALES TRATADOS CON CPZ Y HAL.

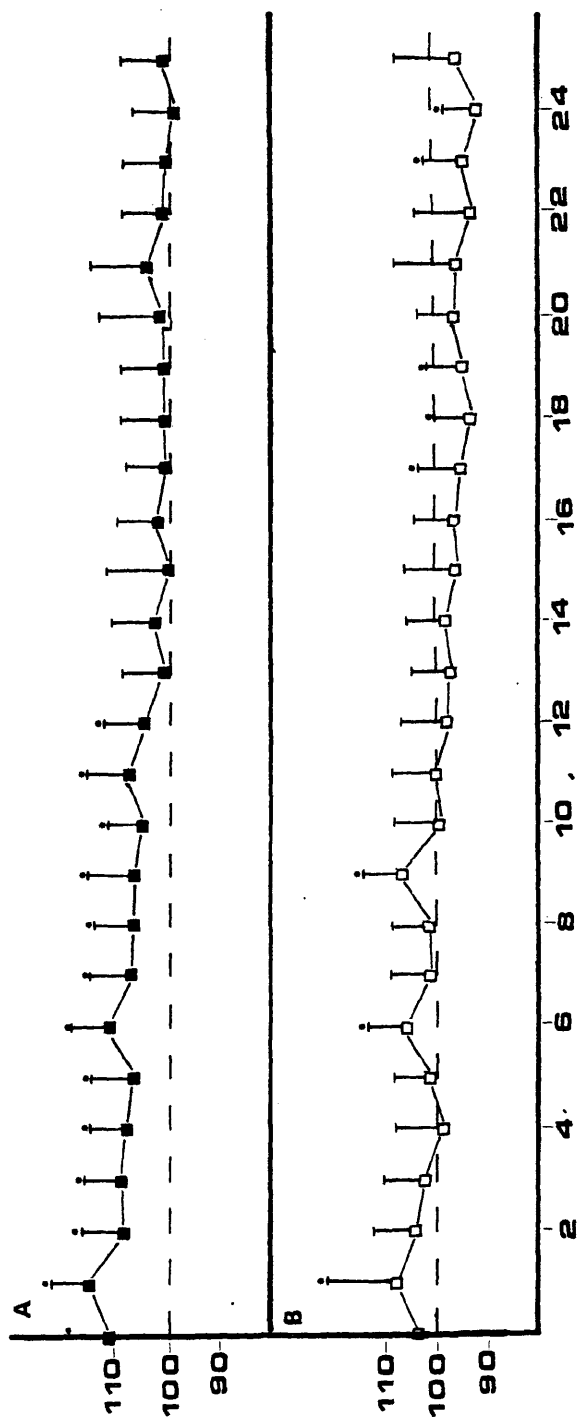
5.1.1. VARIACIONES PONDERALES EN ANIMALES SOMETIDOS A TRATAMIENTO

En la gráfica 1, se recogen las variaciones ponderales de los dos lotes de animales tratados: Hal (gráf. 1A), CPZ (gráf. 1B), demostrativas de los cambios ponderales.

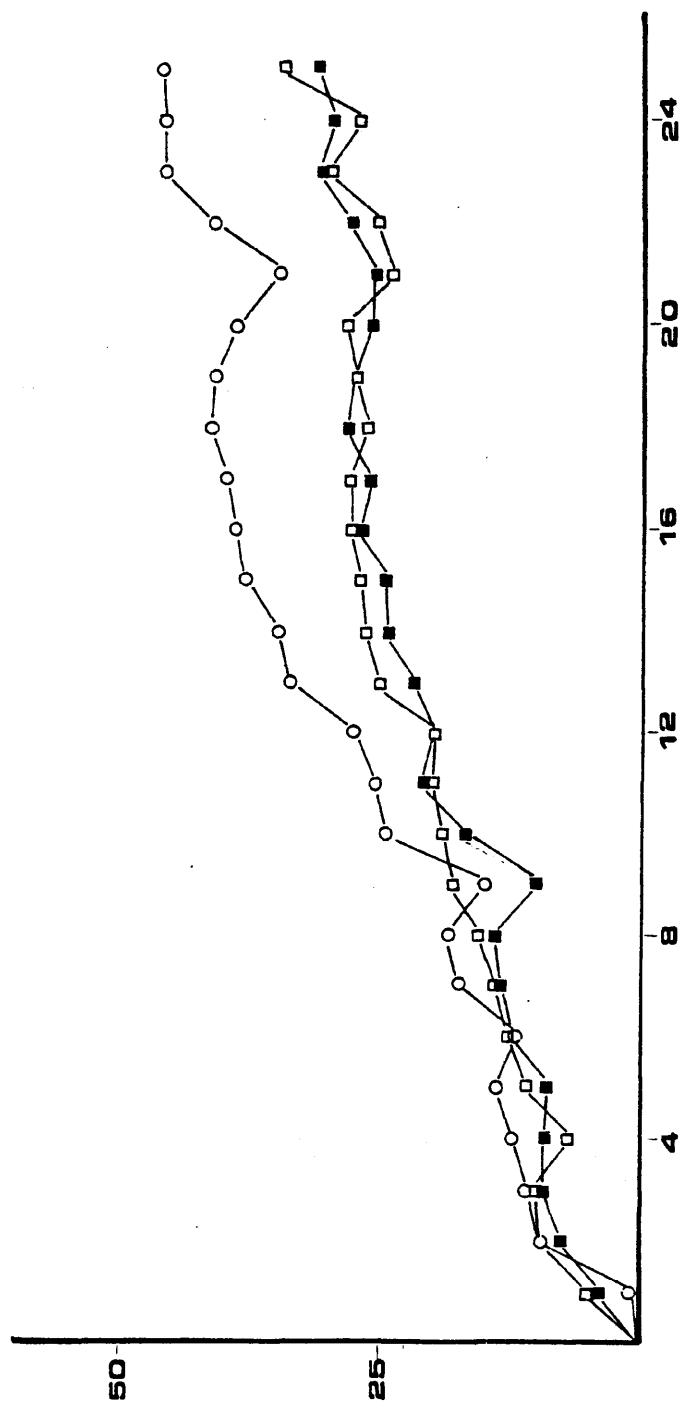
En general, en dichos lotes, se observan dos etapas en cuanto a variaciones ponderales con respecto a los animales controles alimentados "ad libitum" e inyectados diariamente con suero salino. En la primera etapa, comprendida por las doce semanas iniciales de tratamiento, se observa en los animales tratados, un aumento ponderal con respecto a los controles, que en el caso del lote tratado con Hal es significativo en todas las semanas de este período, alcanzando un valor de $5 \pm 7\%$ en la duodécima semana (graf. 1A); mientras que en los animales tratados con CPZ (graf. 1B), el aumento ponderal no es tan pronunciado, siendo significativo en la primera, sexta y novena semana de tratamiento; igualando a los valores de peso control en la décima y undécima semana, y disminuyendo un $2 \pm 8\%$ en la doceava semana con respecto a la variación ponderal del control.

A partir de la doceava semana y hasta el final del tratamiento en los animales tratados con Hal, se produce una disminución ponderal, aproximándose al peso de los animales control, no siendo las variaciones significativas en ninguna etapa de este período, encontrándose el valor ponderal en la última semana de tratamiento en $0,3 \pm 8\%$

En lo que se refiere a los animales tratados con CPZ, la disminución ponderal en este período es mas intensa y siempre por debajo de los valores control, siendo significativa en la ^{decimoseptima} decimoseptima



GRAFICA 1.- Variaciones porcentuales de los pesos de los animales tratados con Hal (A) (dosis de 2 mg/Kg) y CPZ (B) (dosis de 2 mg/Kg) con respecto al tiempo de tratamiento.



GRAFICA 2.- Variaciones porcentuales de los pesos ganados semanalmente por los animales de los diferentes lotes con respecto al peso inicial del tratamiento, frente a tiempo de tratamiento.

- O—O Animales control tratados con suero salino
- Animales tratados con Hal. (2 mg/Kg)
- Animales tratados con CPZ. (2 mg/Kg)

ma ($5 \pm 7\%$), decimooctava ($7 \pm 6\%$), decimonovena ($6 \pm 7\%$), vigesimotercera ($7 \pm 7\%$), y vigesimocuarta ($9 \pm 6\%$) semanas de tratamiento.

Estos resultados son corroborados por la gráfica de crecimiento (%de peso ganado por semana con respecto al peso inicial del tratamiento, frente a tratamiento, gráf. 2), en que se observa una disminución en las curvas de crecimiento de los animales tratados a partir de la duodécima semana y hasta el final del periodo de tratamiento.

5.1.2. VARIACIONES DE PESOS DE MUESTRAS Y CONTENIDO EN PROTEINAS DE LAS MISMAS. (GRAFICAS 3 Y 4).

En los animales tratados con Hal entre uno y seis meses, las variaciones de peso de cerebelo se mantienen aproximadamente iguales al valor control, excepto en el primer y sexto mes de tratamiento, en que el valor del peso de cerebelo se encuentra 14% por debajo del valor control. Tras la interrupción del tratamiento, se siguen manteniendo los valores aproximadamente iguales al control, para rebasarlo en un 12% tras 8,5 meses de recuperación (gráf. 3A).

En cuanto a las variaciones de peso de cerebelo en los animales tratados con CPZ, se puede decir que son prácticamente las mismas que las de los animales tratados con Hal, tanto en el período de tratamiento como tras la retirada del mismo, en que los valores de peso de muestra de los animales tratados (CPZ) no sobrepasa en $\pm 5\%$ el valor de peso de muestra control (gráf. 4A).

Con respecto al resto de las muestras, las variaciones de peso de telencéfalo, troncoencéfalo y diencéfalo, se observa que en los animales tratados (CPZ y Hal), los valores de peso del telencéfalo y troncoencéfalo, durante el período de tratamiento, se mantienen al rededor de los valores control, aunque algo por debajo, excepto en el primer mes que se rebasa el valor de peso de muestra control entre

un 15-30%, para las muestras de telencéfalo tratadas, y un 2% para las de troncoencéfalo.

Con la retirada del tratamiento, las variaciones de peso de muestras de telencéfalo y troncoencéfalo tratadas muestran grandes diferencias con respecto a las muestras control.

En lo que a las variaciones de peso de muestras de diencéfalo tratadas se refiere, aparecen también grandes diferencias con respecto a la muestra control, tanto en el período de tratamiento como en el de recuperación.

Por análisis del contenido de proteínas totales en estas muestras, se observa que: (gráfs. 3C y 4C)

1) En cerebelo, a excepción del primer mes de tratamiento en que el contenido de proteínas de la muestra control es igual al de las muestras tratadas (CPZ y HAL), durante el período restante, aparece una disminución en el mismo. Tras la retirada del tratamiento, hay una recuperación, rebasando al contenido de proteínas de la muestra control a los siete meses de cese del tratamiento para las muestras tratadas con HAL, mientras que para las tratadas con CPZ el contenido de proteínas rebasa en un 30% al valor control, a los tres meses de recuperación. Este valor se mantiene tras siete meses de recuperación y a los 8,5 meses disminuye a un 18% para las muestras tratadas con CPZ y 2% por debajo del valor control, para las tratadas con HAL.

2) En telencéfalo, el contenido de proteínas en los animales tratados, se mantiene por debajo de los valores de muestra control, aunque van aumentando gradualmente a partir de los 4,5 meses de tratamiento. El contenido de proteínas sigue aumentando tras la interrupción del tratamiento, llegando tras siete meses de recuperación a sobrepasar el valor de muestra control, en las muestras tratadas con ambos neurolépticos. Sin embargo, se produce una disminución ha

cia el valor de muestra control, en la etapa final de recuperación.

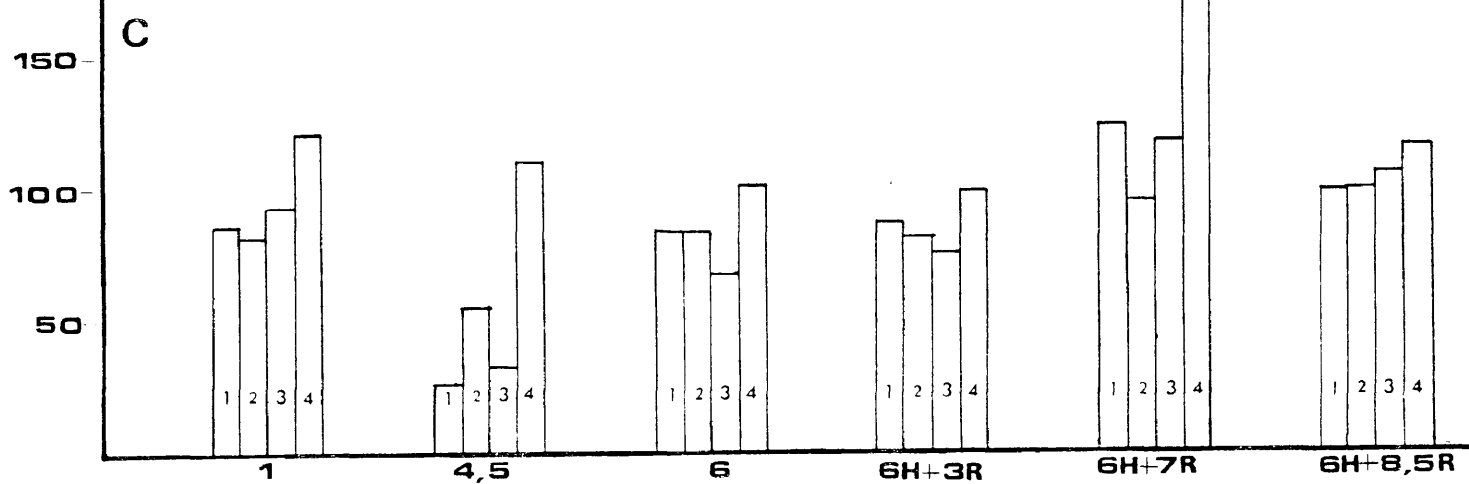
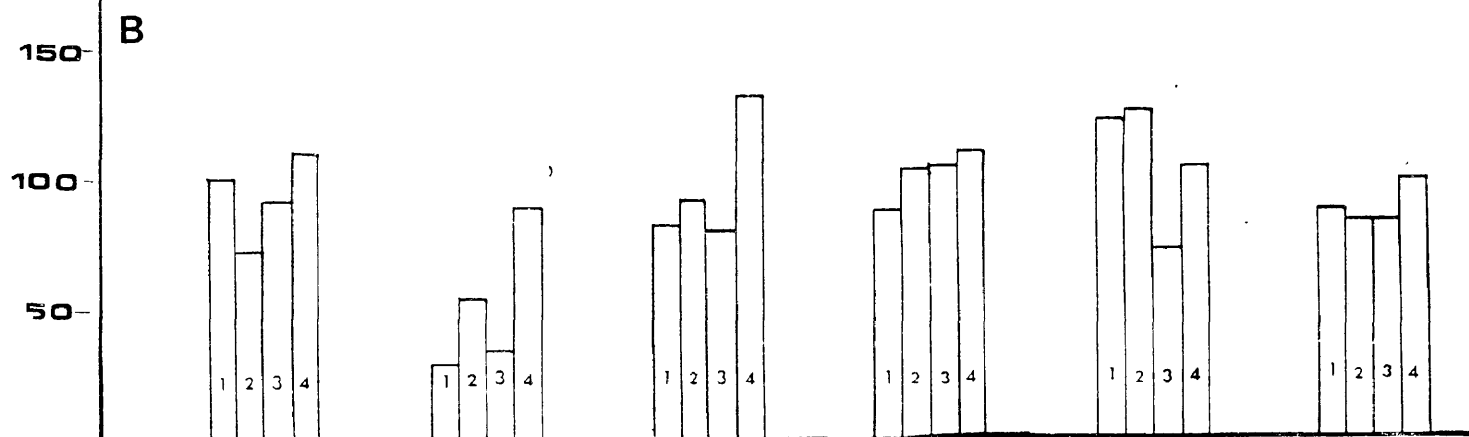
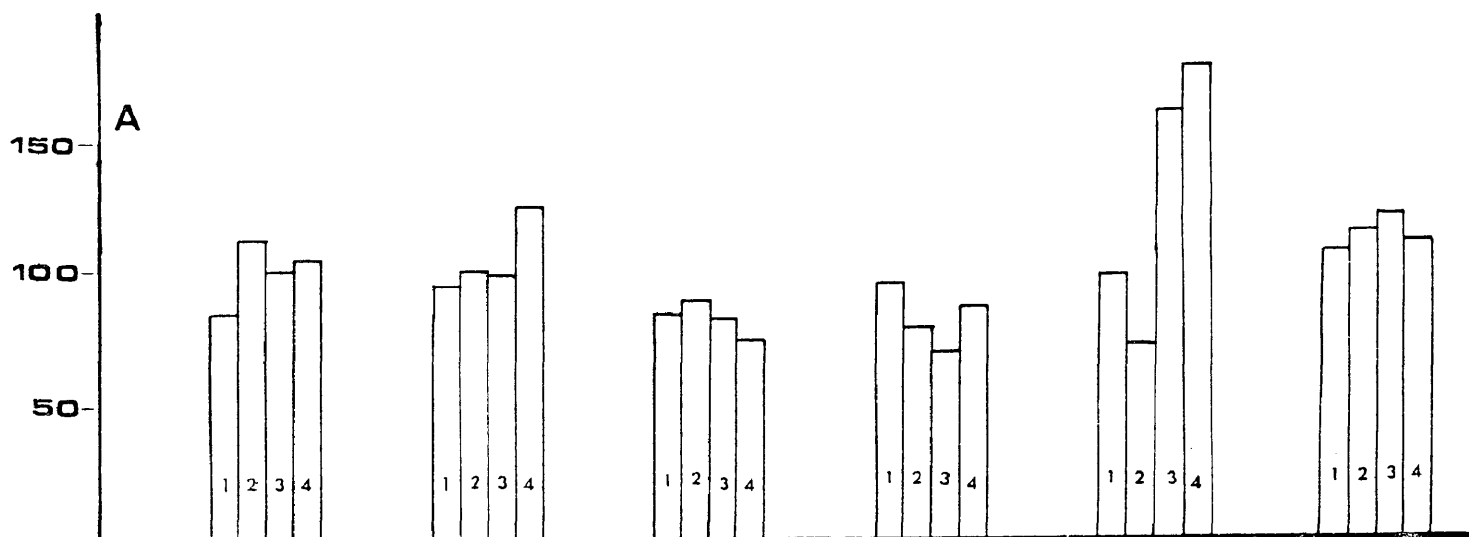
3) Troncoencéfalo. El contenido de proteínas de las muestras tratadas, se encuentra durante todo el período de tratamiento por debajo de los valores de muestra control, pero a partir de los 4,5 meses de tratamiento, se produce un aumento en el mismo y a los tres meses de interrupción del tratamiento, rebasan el valor de muestra control, sobre todo las muestras tratadas con CPZ (60%). Tras siete meses de recuperación, el contenido de proteínas en las muestras tratadas si ^egue por encima de los valores de muestra control, aunque ha disminuido ligeramente. En la etapa final de recuperación, ambos valores tienden al valor de muestra control.

4) Diencéfalo. En el primer mes de tratamiento, el contenido total de proteínas en las muestras tratadas con CPZ y Hal rebasan al contenido de proteínas de la muestra control. A los 4,5 meses de tratamiento, el contenido de proteínas aumenta en las muestras tratadas con CPZ y disminuye ligeramente con respecto al período anterior en las muestras tratadas con HAL. A los seis meses de tratamiento, el contenido de proteínas en las muestras tratadas con CPZ y HAL se aproxima al de la muestra control. Tras tres meses de interrupción del tratamiento se observa un aumento en el contenido protéico de las muestras tratadas con CPZ, mientras que el valor del contenido total de proteínas para las muestras tratadas con HAL se mantiene como en la etapa final del tratamiento.

Tras siete meses de recuperación el contenido total de proteínas en las muestras tratadas con HAL aumenta bruscamente (90%) y disminuye ligeramente en las tratadas con CPZ (20%); y en la última de recuperación, hay una tendencia en las muestras tratadas con HAL a alcanzar el valor control, mientras que en las tratadas con CPZ se produce una fuerte disminución con respecto al contenido de proteínas control (40%).

GRAFICA 3.- Variaciones porcentuales de los pesos y contenido de proteínas de las muestras empleadas en el análisis bioquímico, correspondientes a animales tratados con HAL (2 mg/KG) durante 1, 4.5 y 6 meses, y la recuperación espontánea durante 6H+3R (6 meses de tratamiento con HAL + 3 meses de recuperación); 6H+7R (6 meses de tratamiento con HAL + 7 meses de recuperación) y 6H+8,5R (6 meses de tratamiento con HAL + 8,5 meses de recuperación), con respecto al control salino.
1 = Cerebelo 2 = Telencéfalo 3 = Troncoencéfalo 4 = Diencefalo.

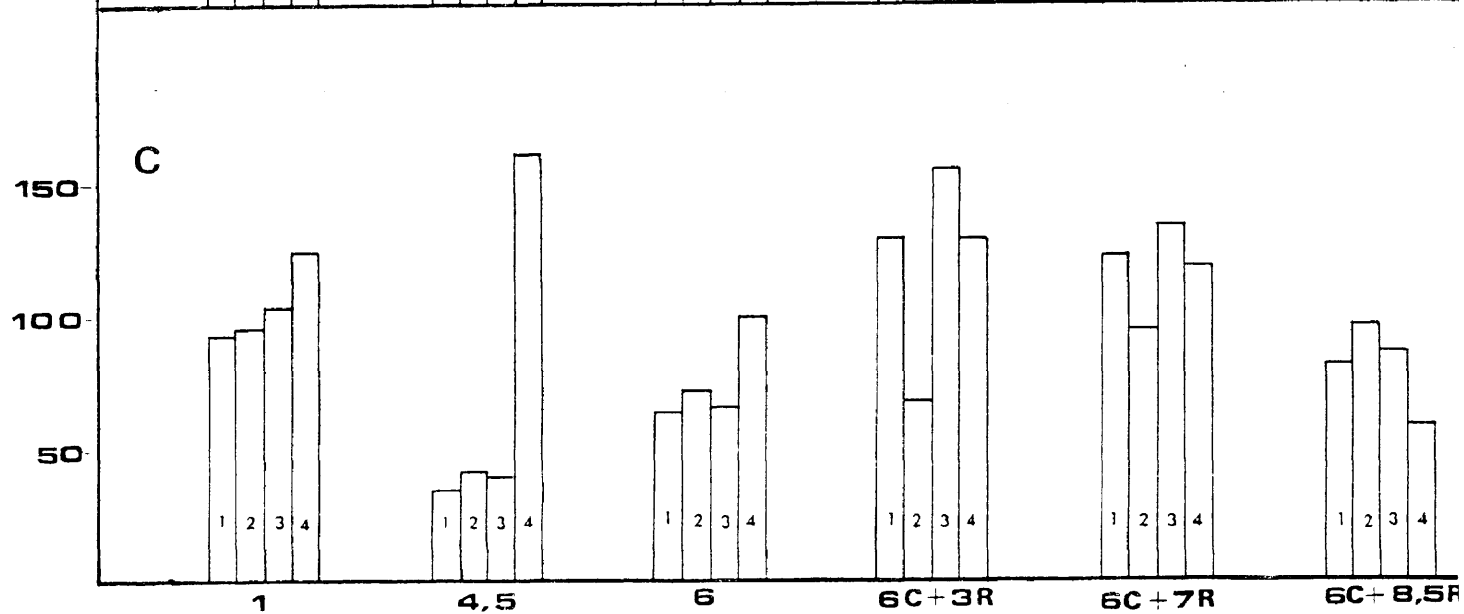
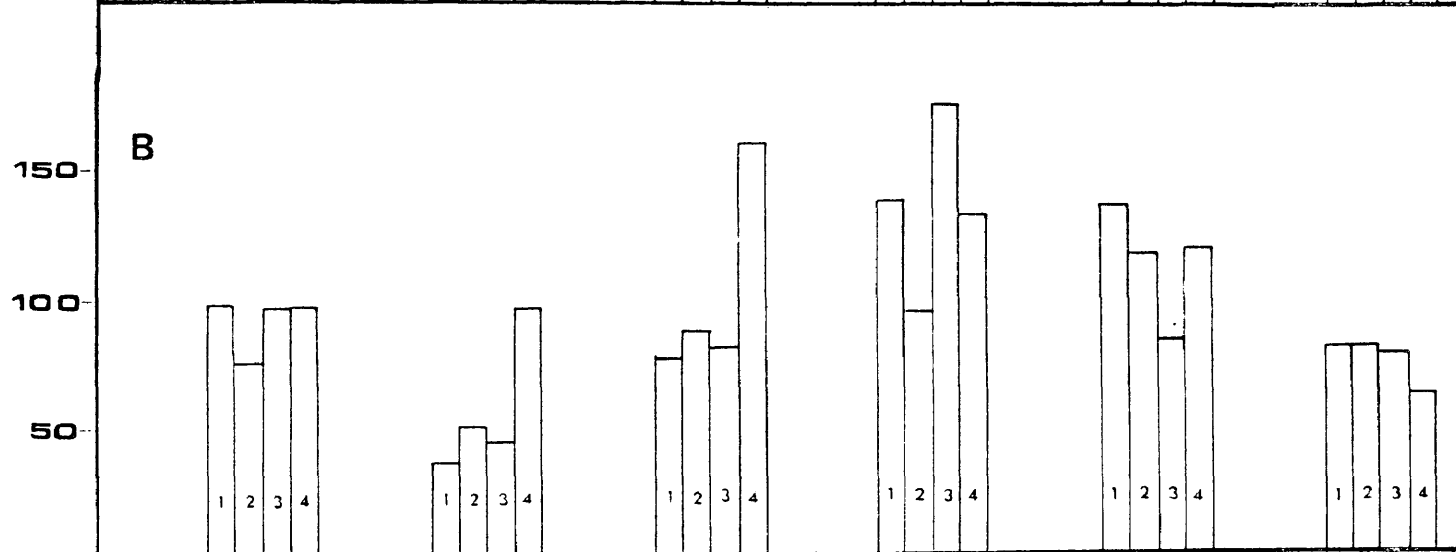
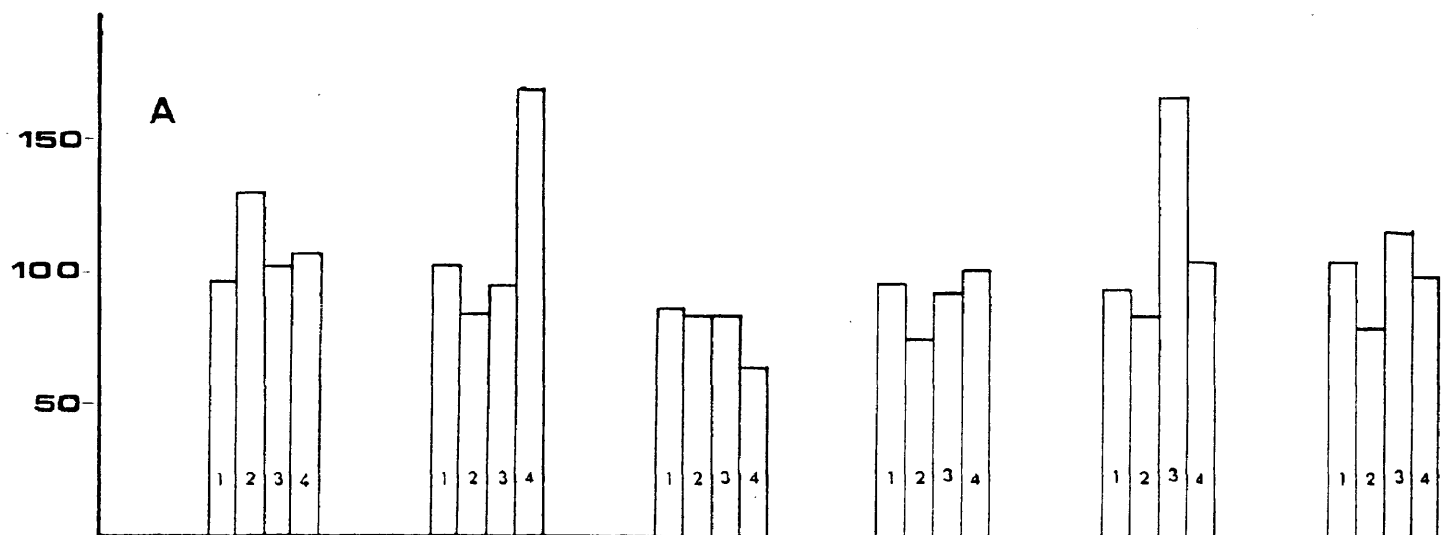
- A) Variaciones porcentuales de los pesos de las muestras
- B) Variaciones porcentuales del contenido de proteínas en mg de proteína por mg de tejido.
- C) Variaciones porcentuales del contenido total de proteínas.



GRAFICA 4.- Variaciones porcentuales de los pesos y contenido en proteínas de las muestras empleadas en el análisis bioquímico, correspondientes a animales tratados con CPZ (2 mg/Kg) durante 1, 4,5 y 6 meses y la recuperación espontánea durante 6C+3R (6 meses de tratamiento con CPZ + 3 meses de recuperación), 6C+7R (6 meses de tratamiento + 7 meses de recuperación) y 6C+8,5R (6 meses de tratamiento + 8,5 meses de recuperación), con respecto al control salino.

1 = Cerebelo 2 = Telencéfalo 3 = Troncoencéfalo 4 = Diencéfalo.

- A) Variaciones porcentuales de los pesos de las muestras
- B) Variaciones porcentuales del contenido de proteínas en mg de proteína por mg de tejido.
- C) Variaciones porcentuales del contenido total de proteínas.



5.2. ALTERACIONES BIOQUIMICAS

5.2.1. VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN CEREBELO POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL

5.2.1.1. Variaciones en la actividad enzimática GDH (Gráfica 5)

Se observa que durante todo el periodo del tratamiento (6 meses), los animales tratados con ambos neurolépticos (CPZ y HAL) presentan unos niveles de actividad GDH por debajo de los valores de actividad GDH control excepto en el primer mes de tratamiento para los animales tratados con CPZ en que la actividad GDH es igual al valor de actividad control. Tras la retirada del tratamiento (a los 3 meses) las actividades GDH de los animales tratados con HAL y CPZ llegan a igualarse con las actividades GDH control. A los 7 meses del post-tratamiento los niveles de actividad GDH se desvían ligeramente de los GDH control y a los 8,5 meses la actividad GDH para los animales tratados con CPZ es prácticamente igual a los valores control y algo más bajos en los animales tratados con HAL (10%).

5.2.1.2. Variaciones en la actividad enzimática AAT (Gráfica 5)

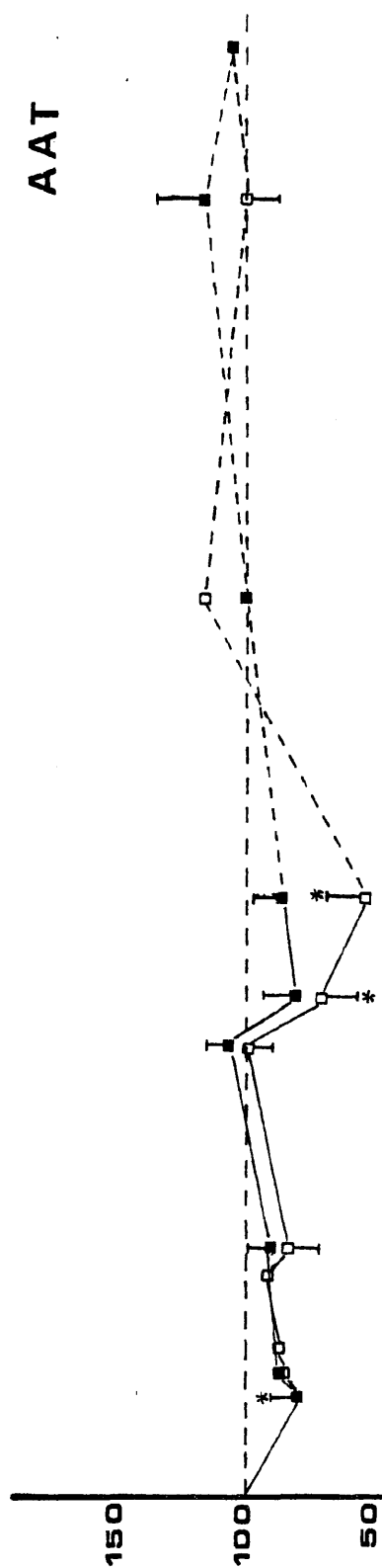
En el primer mes de tratamiento se produce una disminución de las actividades AAT en los animales tratados (Hal y CPZ) con respecto a los valores de actividad AAT control, que va aumentando gradualmente hasta los 2,5 meses excepto para CPZ que disminuye ligeramente. A los 4,5 meses de tratamiento, la actividad AAT de los animales tratados con CPZ iguala los valores de actividad control y la rebasa ligeramente por encima (6%), en los animales tratados con HAL. En el último periodo de tratamiento se produce disminución de actividad AAT en los animales tratados (HAL y CPZ) por debajo de los

GRAFICA 5.- Variaciones de las actividades enzimáticas GDH y AAT en Cerebelo, obtenidas durante los tratamientos:

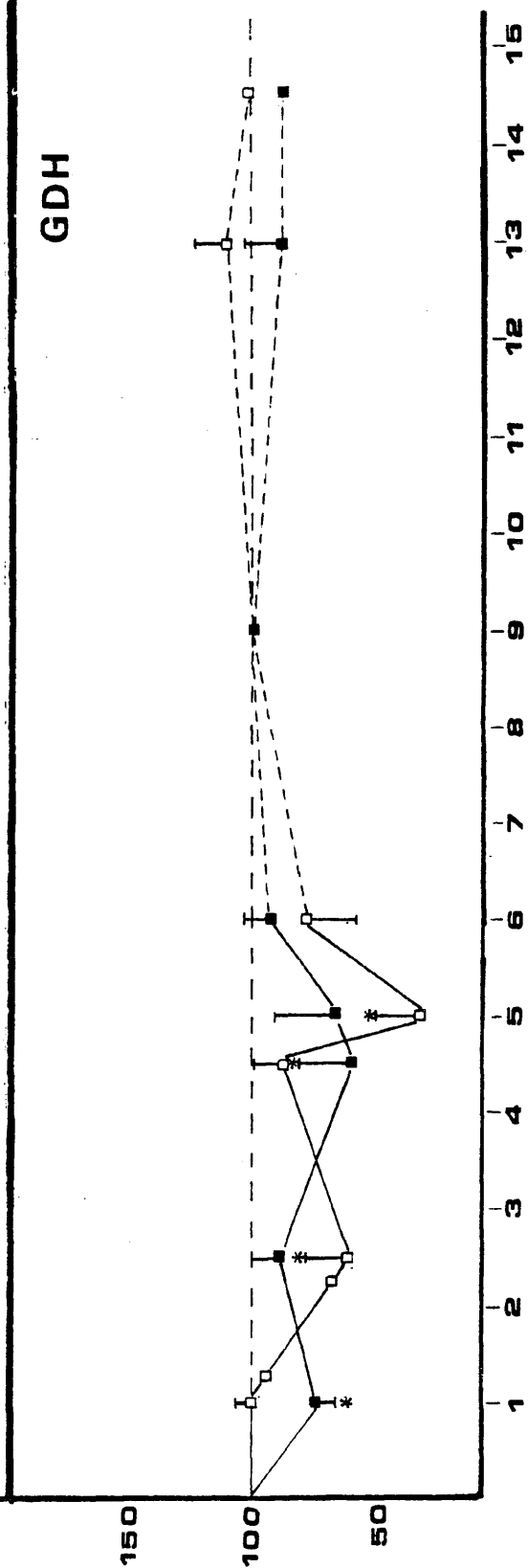
- Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)
- Recuperación espontánea por cese del tratamiento.
- Tratamiento con HAL (2 mg/Kg).
- Recuperación espontánea por cese del tratamiento.

Se representan las variaciones porcentuales respecto a los controles, frente a los meses de tratamiento.

AAT



GDH

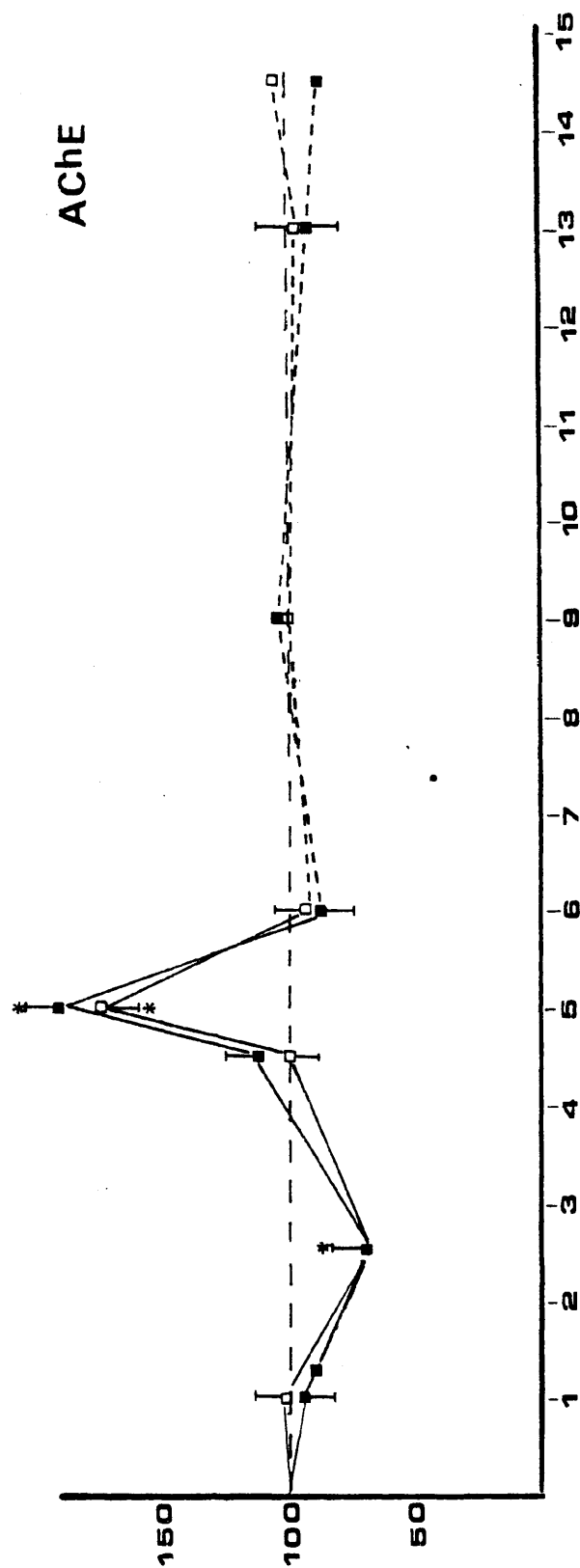


valores control. Durante la fase de post-tratamiento, se produce a los 3 meses un aumento de actividad AAT que es de un 16% para los animales tratados con CPZ por encima del valor control y en el caso de los animales tratados con HAL, iguala la actividad AAT control. A los 7 meses, se invierten los valores de actividad AAT en los animales tratados, siendo ahora el de los animales tratados con HAL de un 16% por encima del valor de actividad control y el de los animales tratados con CPZ igual al valor de actividad control. A los 8,5 meses de post-tratamiento las actividades AAT de los animales tratados con ambos neurolépticos son prácticamente iguales a la actividad AAT control (6%).

El comportamiento de ambos neurolépticos durante la fase de tratamiento y el periodo de post-tratamiento es paralelo con respecto a la actividad enzimática AAT.

5.2.1.3. Variaciones en la actividad enzimática AChE (Gráfica 6)

En el primer mes de tratamiento, la actividad enzimática AChE para los animales tratados con CPZ es igual a la actividad AChE control mientras que para los animales tratados con Hal es algo más baja (6%). A los 2,5 meses de tratamiento la actividad AChE disminuye hasta un 30% por debajo de los niveles de actividad AChE control en los animales tratados (CPZ y Hal). Durante los 2 meses siguientes la actividad AChE aumenta llegando a igualarse a la actividad AChE control en el caso de CPZ y a rebasarla en un 10% en el caso del Hal. En el último periodo del tratamiento se produce en primer lugar un fuerte aumento de la actividad enzimática en los animales tratados (Hal y CPZ) de 70-90% por encima del valor de actividad control, para disminuir bruscamente a los 6 meses del tratamiento en que la actividad AChE aparece ligeramente por debajo de la actividad control (10%). En todo el periodo de post-tratamiento



GRAFICA 6.- Variaciones de las actividades enzimáticas AChE, en Cerebelo,

obtenidas durante los tratamientos.

□—□ Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)

□---□ Recuperación por cese del tratamiento

■—■ Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)

■---■ Recuperación por cese del tratamiento.

Se representan los valores porcentuales con respecto a los controles, frente a los meses de tratamiento.

to los niveles de actividad enzimática están más o menos estabilizados e igualados a los controles.

El comportamiento de los dos neurolépticos (CPZ y Hal) es paralelo en ambos periodos (tratamiento y post-tratamiento) con respecto a la actividad enzimática AChE.

5.2.1.4. Variaciones de la actividad enzimática SDH (Gráfica 7)

Ya en el primer mes de tratamiento se produce una disminución de actividad (10-20%) de esta enzima, por debajo de los valores de actividad control, tanto para las ratas tratadas con CPZ como para las tratadas con Hal; siendo más pronunciada en estas últimas. Durante los 4 meses siguientes de tratamiento se mantienen los valores de actividad por debajo de los controles, pero en el último mes y medio de tratamiento se produce, en primer lugar una disminución de actividad por haloperidol y en menor grado por CPZ, para originarse posteriormente una elevación de la misma que incluso rebasa en un 25% el valor control para los animales tratados con Hal; mientras que para los tratados con CPZ, aunque también aumenta la actividad, no alcanza el valor control.

Tras la retirada del tratamiento, se observa una disminución de la actividad SDH en las ratas tratadas (Hal y CPZ), pero a partir del cuarto mes se inicia para ambos neurolépticos una lenta recuperación hacia el valor de actividad control, siendo alcanzada en los animales tratados con Hal a los 7 meses y en los tratados con CPZ a los 8,5 meses del post-tratamiento.

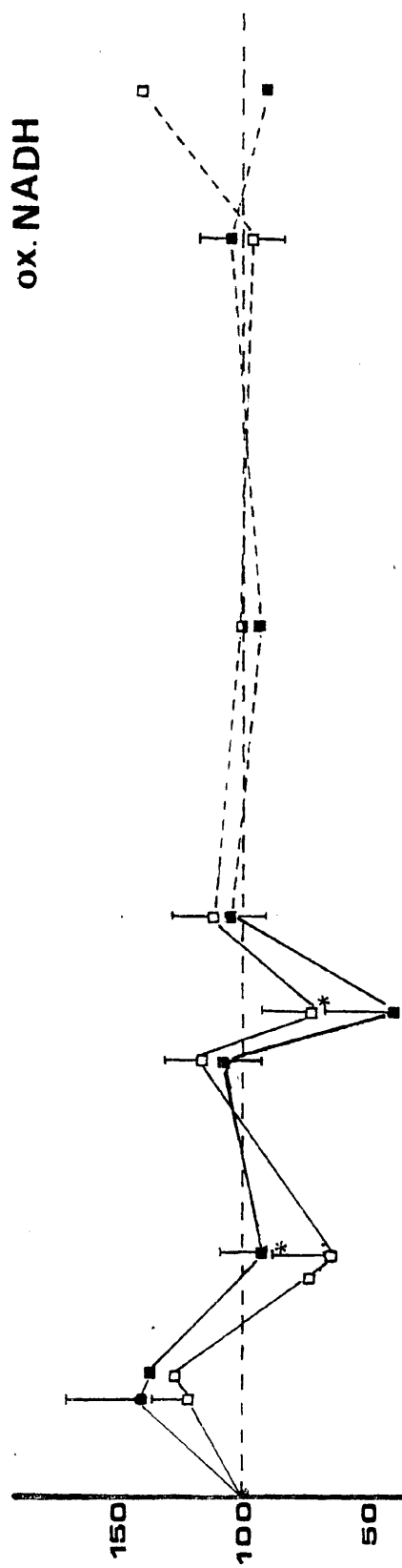
Se observa un comportamiento paralelo de ambos neurolépticos con respecto a la actividad enzimática SDH.

GRAFICA 7.- Variaciones de las actividades enzimáticas SDH y OxNADH en Cerebelo, obtenidas durante los tratamientos:

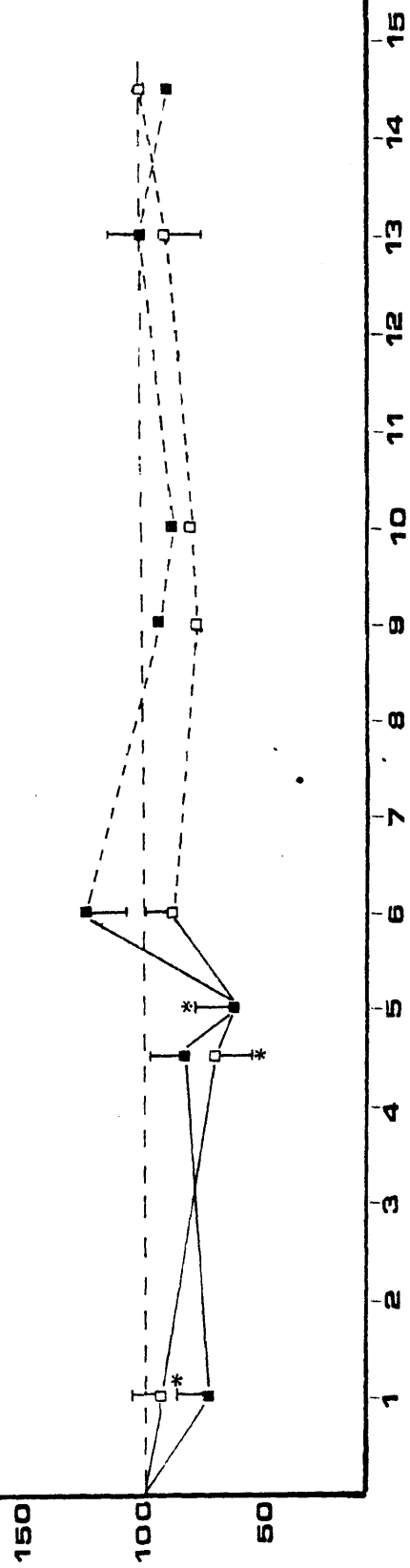
- Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)
- Recuperación espontánea por cese del tratamiento
- Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)
- Recuperación espontánea por cese del tratamiento

Se representan los valores porcentuales con respecto a los controles frente a meses de tratamiento.

ox. NADH



SDH



5.2.1.5. Variaciones en la actividad enzimática NADH oxidoreductase (Gráfica 7)

En el primer mes de tratamiento la actividad NADH de los animales tratados (Hal y CPZ) aumenta (20-40%) con respecto al valor de actividad NADH control, incrementándose en un 6% para CPZ a la semana siguiente y disminuyendo un 4% para el Hal en el mismo intervalo de tiempo. A los 2,5 meses de tratamiento se produce una disminución de actividad de un 35% por debajo del valor de actividad control para los animales tratados con CPZ y de un 8% para los tratados con Hal.

Durante los dos meses siguientes de tratamiento, se produce un aumento de la actividad NADH en los animales tratados (Hal y CPZ) hasta rebasar el valor de actividad NADH control en 8-15%, pero esta actividad disminuye notablemente a los 5 meses de tratamiento, siendo de un 60% por debajo del valor de actividad control para el Hal y de un 30% para la CPZ. Sin embargo a los 6 meses de tratamiento la enzima para ambos neurolépticos presenta unos niveles de actividad cercanos a los de la enzima control. Tras la interrupción del tratamiento, los niveles de actividad NADH varían ligeramente con respecto a los de la enzima control entre los 3 y los 7 meses de este periodo para terminar altos en el caso de CPZ (40%) y un poco por debajo del nivel de actividad control en el caso del Hal (10%), a los 8,5 meses de post-tratamiento. Los dos neurolépticos tienen un comportamiento paralelo con respecto a la actividad enzimática NADH, tanto durante el tratamiento como en la fase de post-tratamiento.

5.2.1.6. Variaciones en la actividad enzimática MAO (Gráfica 17, A y B)

A los 4,5 meses de tratamiento, la actividad MAO de los

animales tratados (CPZ y Hal) se encuentra por encima de los valores de actividad MAO control, pero a los 6 meses de tratamiento la actividad MAO ha disminuido hasta 9-14% por debajo de los valores de actividad control.

A los 7 meses de la interrupción del tratamiento, la actividad MAO rebasa en 14% al valor control en los animales tratados con CPZ, mientras que los tratados con Hal tienden al valor de actividad MAO control.

Se puede decir que durante el tratamiento, ambos neurolépticos presentan un comportamiento paralelo con respecto a la actividad enzimática MAO.

5.2.2. VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN TELENCEFALO POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL.

5.2.2.1. Variaciones en la actividad enzimática GDH. (Gráfica 8)

En el primer mes de tratamiento, la actividad GDH en los animales tratados con CPZ es igual a la actividad GDH control y la de los animales tratados con Hal ha disminuido un 22% con respecto a la misma. A los 2,5 meses de tratamiento, la actividad GDH para los animales tratados con CPZ ha disminuido ligeramente por debajo del valor control, pero se puede decir que hasta el 6° mes de tratamiento en que rebasa un 50% dicho valor, se mantiene en los mismos niveles de actividad que la enzima control.

Durante este mismo período, la actividad GDH en los animales tratados con Hal, es casi paralela a la de los tratados con CPZ ya que a los 2,5 meses de tratamiento se alcanza el valor de actividad control y se mantiene a los 4,5 meses de tratamiento, pero en el periodo siguiente disminuye un 32% por debajo del valor control y en el 6° mes de tratamiento aumenta igual que la de los tratados con CPZ.

A los 7 meses de retirada del tratamiento, la actividad GDH para los animales tratados con CPZ se mantiene como a los 6 meses de tratamiento, para igualarse a la actividad GDH control a los 8,5 meses de post-tratamiento.

En cuanto a la actividad GDH en los animales tratados con Hal ha disminuido y es igual a la actividad GDH control a los 7 meses, apareciendo por debajo del valor de actividad GDH control en la última etapa de recuperación.

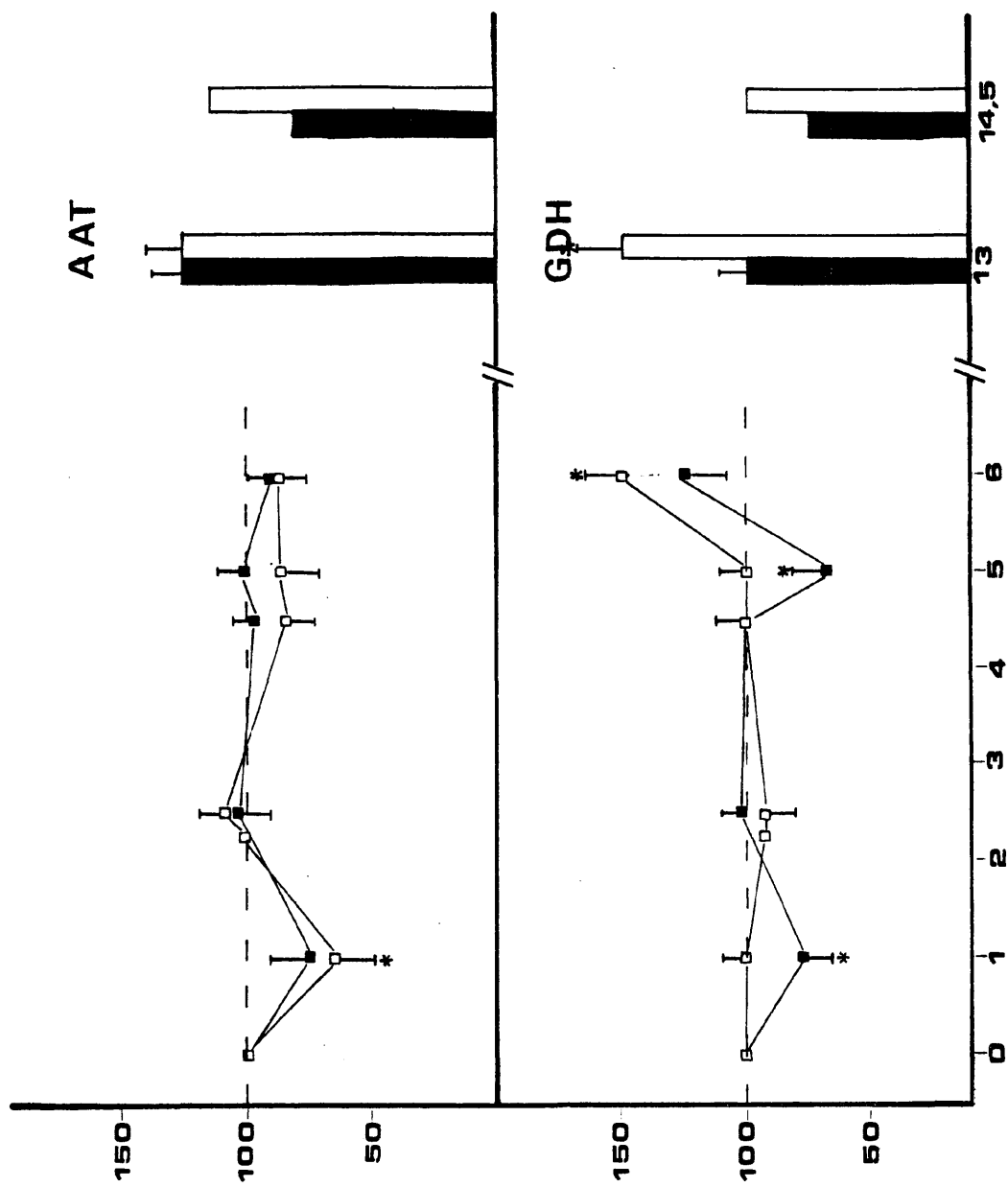
El comportamiento de ambos fármacos con respecto a la actividad enzimática GDH es paralelo en todo el período de observación.

5.2.2.2. Variaciones de la actividad enzimática AAT. (Gráfica 8)

En el primer mes de tratamiento, la actividad AAT en los animales tratados (CPZ y Hal) ha disminuido en relación al valor control. Sin embargo, la act. de la enzima va aumentando y a los 2,5 meses presenta unos niveles ligeramente por encima de la act. control. En los dos meses siguientes de tratamiento, la act. AAT se mantiene en los animales tratados con Hal, disminuyendo a un 10% por debajo del valor control en el sexto mes de tratamiento.

En cuanto al comportamiento de la act. AAT en los animales tratados con CPZ, es paralelo al anterior, pero las oscilaciones en los valores de act. con respecto al valor control son algo más acentuadas.

Tras la retirada del tratamiento, se produce a los 7 meses un aumento de act. AAT en los animales tratados con ambos fármacos, a un 25% por encima del valor control, mientras que a los 8,5 meses de post tratamiento la act. AAT en los animales tratados disminuye, pero mientras que en los tratados con CPZ la act. AAT sigue estando por encima del valor de act. control, en los tratados con Hal queda un 10% por debajo de la misma.



GRAFICA 8.- Variaciones de las actividades enzimáticas GDH y AAT en Telencéfalo obtenidas durante los tratamientos y tras su retirada.

□—□ Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)

■—■ Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)

Se representan los valores porcentuales con respecto a los controles frente a meses de tratamiento.

5.2.2.3. Variaciones de la actividad enzimática AChE.(Gráfica 9)

En el primer mes de tratamiento se produce una disminución de la act. AChE en los animales tratados (CPZ y Hal) con respecto a la actividad control. A partir de aquí y hasta el 6º mes de tratamiento en que la act. AChE en los animales tratados con CPZ, alcanza el valor de act. control, la enzima se mantiene en los mismos niveles de actividad que presenta en el primer mes de tratamiento.

En cuanto a la act. enzimática para los animales tratados con Hal, se observa un aumento de la misma (34%) por encima del valor control, a los 2,5 meses de tratamiento.

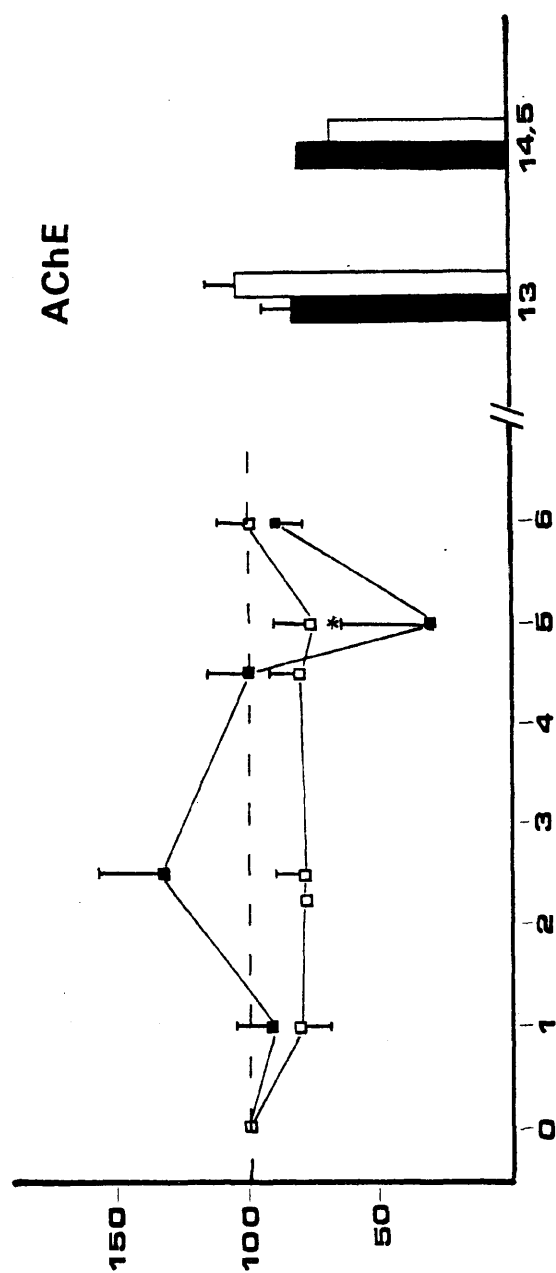
En los 2 meses siguientes, se produce una disminución, hasta igualar el nivel de actividad AChE control y a los 5 meses de tratamiento, la actividad ha disminuido hasta un 70% por debajo del valor de act. control. Sin embargo, en el último mes de tratamiento, la act. enzimática aumenta de nuevo pero sin llegar al valor de actividad control (10%).

Tras la interrupción del tratamiento, a los 7 meses, la actividad AChE en los animales tratados con CPZ se encuentra próxima a los niveles de actividad control y la actividad AChE de los tratados con Hal, ha disminuido (20%) por debajo del mismo; y mientras que este valor se mantiene a los 8,5 meses de post-tratamiento, la actividad AChE de los animales tratados con CPZ, ha disminuido hasta un 32% por debajo del valor de actividad control.

Ambos neurolépticos presentan un comportamiento paralelo con respecto a la actividad enzimática AChE.

5.2.2.4. Variaciones de la actividad enzimática SDH.(Gráfica 10)

En el primer mes de tratamiento, se produce una disminución de la actividad SDH en los animales tratados (CPZ y Hal) con respecto a los valores de actividad SDH control, a los que se tienden a igua-



GRAFICA 9.- Variaciones de la actividad enzimática AChE en Telencéfalo, obtenidas durante los tratamientos y tras la retirada de los mismos.

□—□ Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)

■—■ Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)

Se representan los valores porcentuales con respecto a los controles, frente a los meses de tratamiento.

lar a los 4,5 meses de tratamiento. A los 5 meses de tratamiento vuelve a disminuir la actividad SDH en los animales tratados, y en el último mes de tratamiento se produce un aumento de actividad SDH (20-30%) por encima de los niveles de actividad SDH control.

Tras 7 meses de retirada del tratamiento, la actividad SDH en los animales tratados se mantiene por encima de los niveles de actividad SDH control, hasta que a los 8,5 meses de retirada del tratamiento, disminuye por debajo de los valores de actividad SDH control (10%).

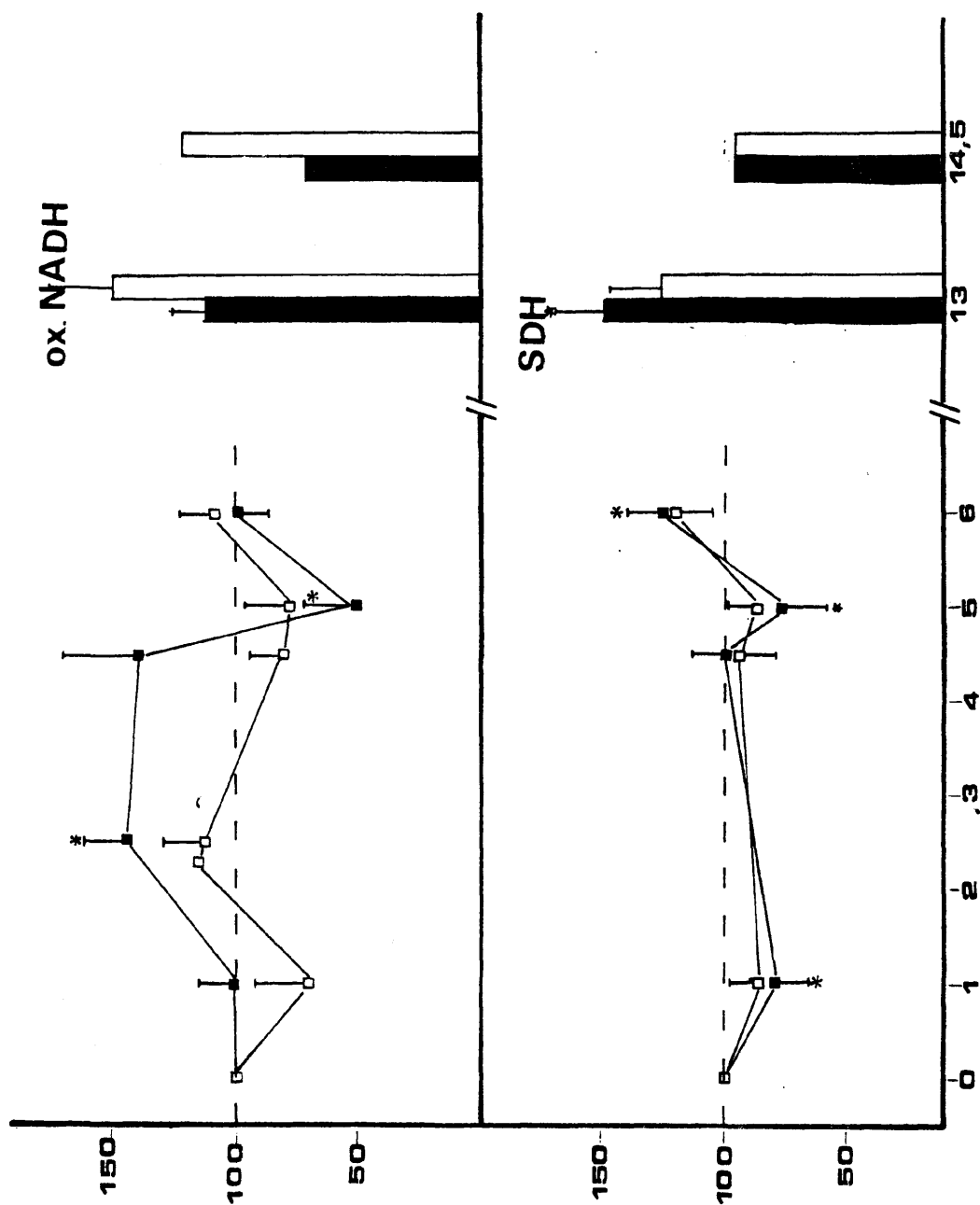
El comportamiento de ambos neurolépticos con respecto a la actividad enzimática SDH en telencéfalo es paralelo, tanto en el tratamiento como tras la retirada del mismo.

5.2.2.5. Variaciones de la actividad enzimática NADH oxido-reductasa. (Gráfica 10)

En el primer mes de tratamiento, la actividad NADH en los animales tratados con Hal es igual a los valores de actividad control; mientras que en los animales tratados con CPZ es de un 30% por debajo de los mismos. A los 2,5 meses de tratamiento, la actividad NADH aumenta en los animales tratados y se estabiliza ligeramente hasta los 4,5 meses de tratamiento, para las ratas tratadas con Hal, disminuyendo (20%) por debajo del valor control para las ratas tratadas con CPZ durante el mismo periodo.

En el 5º mes de tratamiento, la actividad NADH ha disminuido por debajo de los valores de actividad NADH control en los animales tratados (CPZ y Hal); mientras que en el último mes se produce un aumento de actividad, llegando a igualar los niveles de actividad control, e incluso a rebasarlos ligeramente (CPZ).

Tras la retirada del tratamiento, se observa que la actividad NADH en los animales tratados, ha aumentado, sobre todo en el caso de



GRAFICA 10.- Variación de las actividades enzimáticas oxidación de NADH y SDH en

Telencefalo, obtenidas durante los tratamientos y recuperación espontánea.

□—□ Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)

■—■ Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)

Se representan los valores porcentuales con respecto a los controles, frente a meses de tratamiento.

los tratados con CPZ, que excede en 50% al valor de actividad NADH control. Tras 8,5 meses de retirada del tratamiento se produce una disminución de actividad NADH en los animales tratados, pero mientras que la actividad enzimática en los animales tratados con CPZ queda un 20% por encima del valor de actividad NADH control, en los tratados con Hal, queda un 28% por debajo del mismo.

El comportamiento de ambos fármacos es paralelo con respecto a la actividad ox. NADH en telencéfalo, tanto durante el tratamiento como tras la retirada del mismo.

5.2.2.6. Variaciones de la actividad enzimática MAO. (Gráfica 17A y B).

A los 4,5 meses de tratamiento, la actividad enzimática MAO en los animales tratados (CPZ y Hal) ha aumentado con relación al valor de actividad control (18-35%). En el siguiente período de tratamiento, la actividad MAO en animales tratados, ha disminuido a valores ligeramente por debajo del valor de actividad control, mientras que al 6º mes de tratamiento, la actividad MAO en los animales tratados ha rebasado el valor de actividad control.

Tras la interrupción del tratamiento se puede decir que seman tienen estos niveles, aunque la actividad MAO de los animales trata dos con Hal ha disminuido a un 10% por debajo del valor de actividad MAO control.

El comportamiento de ambos neurolépticos es paralelo con res pecto a la actividad enzimática MAO.

5.2.3. VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN TRONCOENCEFALO POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL.

5.2.3.1. Variaciones de la actividad enzimática GDH. (Gráfica 11)

En el primer mes de tratamiento, la actividad GDH en las ratas tratadas con Hal rebasa en un 10% el valor de actividad control, mientras que la actividad GDH en las ratas tratadas con CPZ disminuye un 20% con respecto al valor de actividad control.

A los 2,5 meses de tratamiento, la actividad GDH en los animales tratados con CPZ aumenta, y en los tratados con Hal disminuye, quedando ambas entre 4-10% , por debajo de los valores de actividad control.

A los 4,5 meses de tratamiento, la actividad enzimática GDH, para los animales tratados con CPZ, alcanza el valor de actividad GDH control; se mantiene en el 5° mes de tratamiento y disminuye algo en el último mes de este período.

En cuanto a la actividad de la enzima para los animales tratados con Hal, disminuye a un 32% por debajo del valor de actividad control a los 4,5 meses de tratamiento, lo iguala en el 5° mes y disminuye nuevamente a un 12% por debajo del mismo en el 6° y último mes de tratamiento.

Tras 3 meses de interrupción de tratamiento, hay un aumento de actividad GDH (25-50%) en los animales tratados. Sin embargo, a los 7 meses de post-tratamiento, la actividad GDH ha disminuido hasta (8-24%) por debajo del valor de actividad GDH control; y a los 8,5 meses, mientras que el valor de actividad GDH para los animales tratados con CPZ se mantiene un 8% por debajo del valor de actividad control, la actividad GDH en los animales tratados con Hal, ha disminuido un 90% por debajo del valor de actividad control.

El comportamiento de ambos neurolépticos con respecto a la

actividad enzimática GDH no es paralelo, durante el periodo de tratamiento.

5.2.3.2. Variaciones de la actividad enzimática AAT. (Gráfica 11)

En el primer mes de tratamiento, se produce una disminución en las actividades enzimáticas AAT en los animales tratados con CPZ y Hal de un 32%, en relación al valor de actividad AAT control.

A los 2,5 meses de tratamiento, la actividad AAT en los animales tratados, aumenta en la misma proporción, aunque continúan por debajo de los valores de actividad AAT control.

En los dos meses siguientes de tratamiento, la actividad AAT en los animales tratados con Hal disminuye, y la de los tratados con CPZ aumenta rebasando un 10% el valor de actividad control.

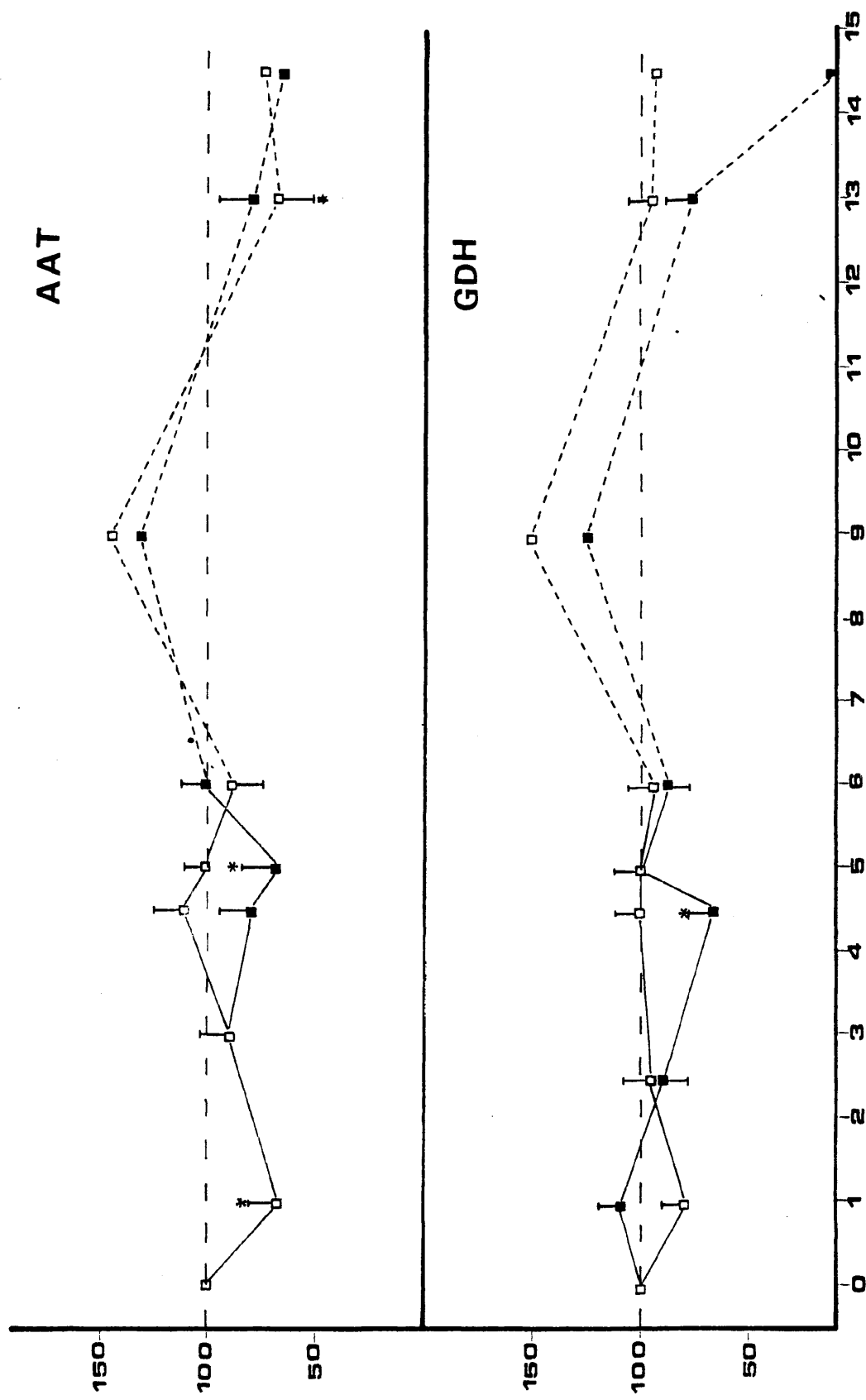
En el 5º mes de tratamiento, la actividad AAT en los animales tratados disminuye, igualando los tratados con CPZ el valor control y quedando los tratados con Hal un 32% por debajo del mismo.

En el último mes de tratamiento la actividad AAT en los animales tratados con CPZ disminuye a un 10% por debajo del valor de actividad control, mientras que los tratados con Hal, igualan dicho valor.

Tras 3 meses de interrupción del tratamiento la actividad AAT en los animales tratados aumenta y rebasa 30-40% el valor de actividad control; sin embargo dichas actividades han disminuido hasta 20-34% por debajo del valor de actividad control a los 7 meses de cese de tratamiento.

En la última etapa de la fase de post-tratamiento se mantienen los valores del periodo anterior para los animales tratados con CPZ, mientras que los de los tratados con Hal siguen disminuyendo.

El comportamiento de ambos neurolépticos con respecto a la actividad enzimática AAT es paralelo en todo el periodo de observación.



GRAFICA 11.- Variaciones de las actividades enzimáticas AAT y GDH en Troncoencéfalo, obtenidas durante los tratamientos.

- Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)
- Recuperación espontánea por cese del tratamiento
- Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)
- Recuperación espontánea por cese del tratamiento

Se representan los valores porcentuales con respecto a los controles frente a meses de tratamiento.

5.2.3.3. Variaciones de la actividad enzimática AChE.(Gráfica 12)

Los niveles de actividad AChE para las ratas tratadas, aparecen en el primer mes de tratamiento un 20-30% por debajo de los niveles de actividad AChE control.

A los 2,5 meses de tratamiento estas actividades enzimáticas tienden a igualarse a los valores de actividad control; pero a los 4,5 meses, mientras que la actividad AChE se mantiene en las ratas tratadas con Hal, en las tratadas con CPZ, la actividad AChE rebasa un 20% el valor de actividad control.

En el 5º mes de tratamiento disminuye ligeramente la actividad AChE en los animales tratados con ambos fármacos.

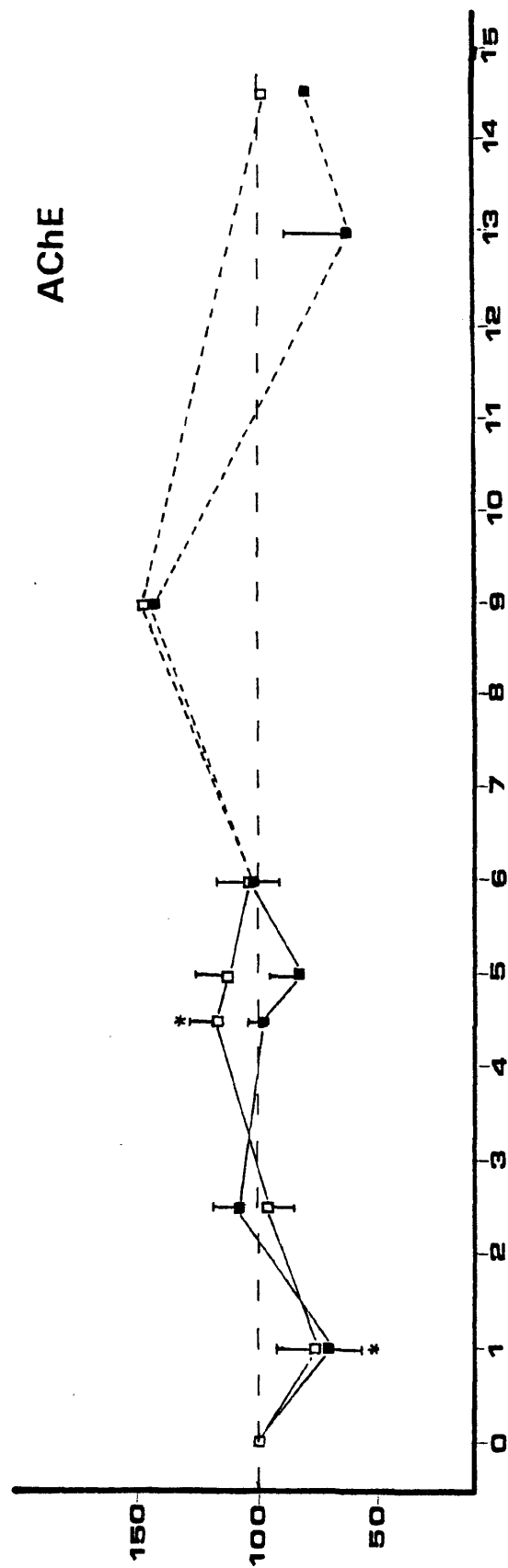
En el último mes de tratamiento las actividades AChE de los animales tratados tienden a igualarse al valor de actividad control.

Tras 3 meses de interrupción del tratamiento las actividades AChE aumentan un 40-50% por encima del valor control y, a los 7 meses disminuyen, quedando la actividad AChE para los animales tratados con CPZ un 10% por encima del valor control y en los tratados con Hal un 40% por debajo del mismo. A los 8,5 meses las actividades AChE para los animales tratados con ambos fármacos tienden a igualarse con las de la enzima control.

El comportamiento de los dos neurolépticos es paralelo con respecto a la actividad enzimática AChE en todo el periodo de observación.

5.2.3.4. Variaciones de la actividad enzimática SDH (Gráfica 13)

En el primer mes de tratamiento la actividad SDH en las ratas tratadas (CPZ y Hal) aparece ligeramente por debajo de los valores control y sigue disminuyendo hasta los 4,5 meses de tratamiento. A los 5 meses de tratamiento la actividad de la enzima para



GRAFICA 12.- Variación de la actividad enzimática AChE en Troncoencéfalo, obtenida durante los tratamientos

□—□ Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)

□—□ Recuperación espontánea por cese del tratamiento

■—■ Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)

■—■ Recuperación espontánea por cese del tratamiento

Se representan los valores porcentuales con respecto a los controles, frente a los meses de tratamiento.

las ratas tratadas con CPZ se iguala al valor control mientras que la de las ratas tratadas con Hal disminuye hasta un 60%. En el último mes de tratamiento la actividad SDH para los animales tratados (CPZ y Hal) rebasa un 6% el valor control en el caso de CPZ y un 25% en el caso del Hal.

Tras la interrupción del tratamiento, a los 3 meses, la actividad SDH para los animales tratados con Hal aumenta a un 50% y la de los tratados con CPZ disminuye a un 10% por debajo del valor de actividad control. En el siguiente periodo, ambas actividades tienden a igualarse con los valores controles (7 meses de post-tratamiento). Por último a los 8,5 meses, la actividad SDH en los animales tratados con CPZ rebasa en un 25% el valor de la actividad SDH control y la de los animales tratados con Hal disminuye a un 25% por debajo del valor control.

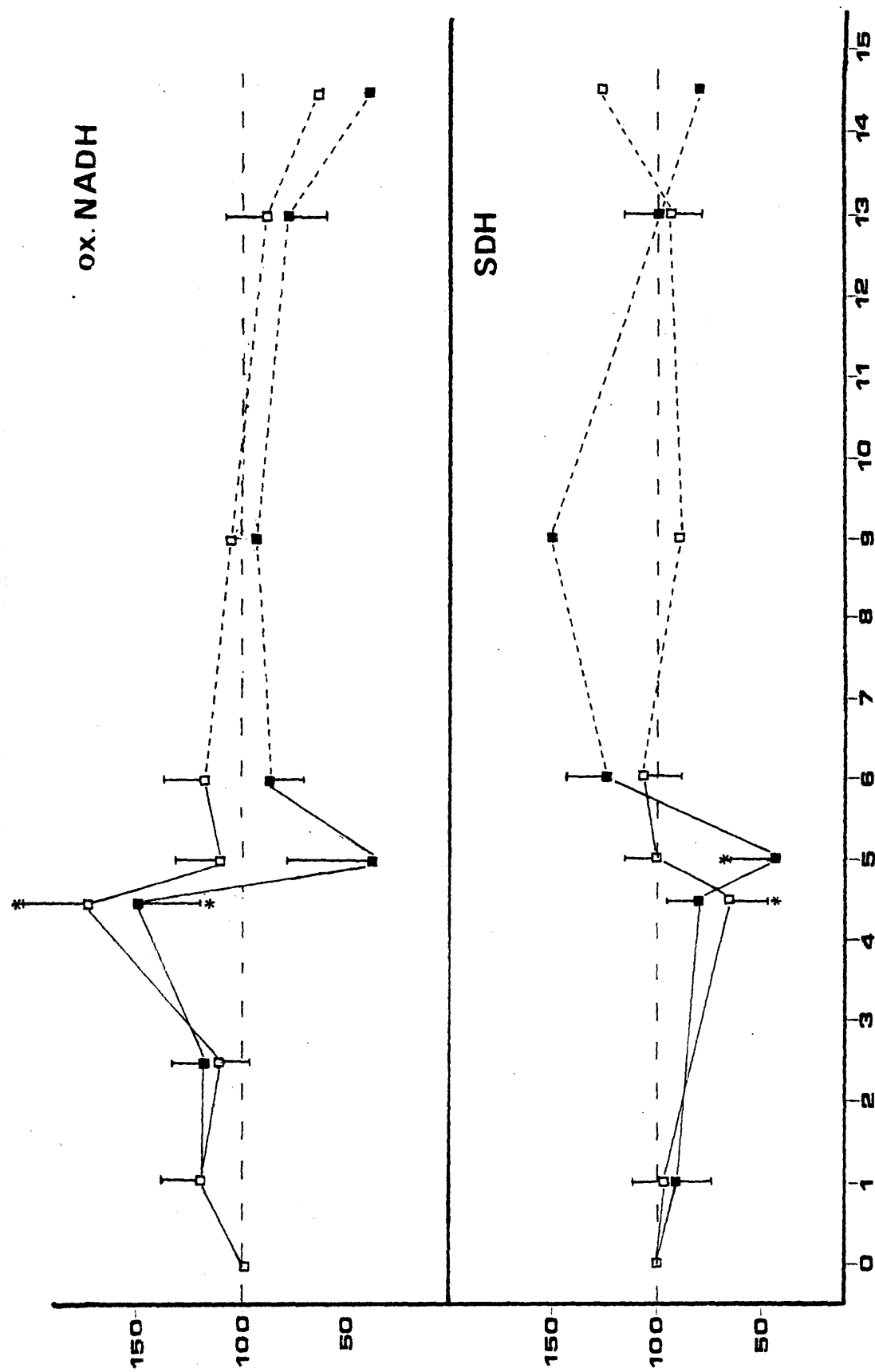
Ambos neurolépticos, tienen un comportamiento paralelo con respecto a la actividad SDH.

5.2.3.5. Variaciones de la actividad enzimática NADH óxido-reductasa.

(Gráfica 13)

Ya en el primer mes de tratamiento se produce un aumento de actividad NADH en los animales tratados (CPZ y Hal) por encima del valor control. A los 2,5 meses de tratamiento, la actividad de la enzima se mantiene como en el primer mes aunque algo más baja. Durante los 2 meses siguientes se produce un fuerte aumento de la actividad NADH en los animales tratados (CPZ y Hal) hasta (50-75%) por encima del valor control.

El quinto mes de tratamiento, la actividad de la enzima ha disminuído a un 10% por encima del valor control para los animales tratados con CPZ y a un 64% por debajo del mismo para los animales tratados con HAL.



GRAFICA 13.- Variaciones de las actividades enzimáticas oxidación de NADH y SDH en Troncoencéfalo, obtenidas durante los tratamientos.

- Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)
- Recuperación espontánea por cese del tratamiento
- Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)
- Recuperación espontánea por cese del tratamiento

Se representan las variaciones porcentuales con respecto a los controles frente a los meses de tratamiento

En el último mes de tratamiento aumenta la actividad NADH para los animales tratados con CPZ a un 18% y la de los tratados con Hal a un 12% por debajo del valor control.

Después de la retirada del tratamiento, a los tres meses, las actividades NADH en los animales tratados con ~~ambos~~ fármacos, tienden a igualarse a las actividades NADH control, pero a los 7 meses han disminuído y aparecen por debajo de los valores control (10-20%). A los 8,5 meses de post-tratamiento, las actividades NADH para ~~ambos~~ fármacos han vuelto a disminuir (35-60%) en relación al valor control.

El comportamiento de ambos neurolépticos es paralelo con respecto a la actividad enzimática NADH en todo el periodo de observación.

5.2.3.6. Variaciones de la actividad enzimática MAO. (Gráfica 17, A y B)

A los 4,5 meses de tratamiento, aparecen unos niveles de actividad MAO para las ratas tratadas, bastante aproximados a los valores de actividad MAO control.

A los 5 meses de tratamiento, la actividad MAO para los animales tratados con Hal disminuye un 28% por debajo del valor control y a los 6 meses de tratamiento, se iguala a la actividad MAO de los controles, mientras que la actividad MAO para los animales tratados con CPZ, rebasa un 8% el valor de la actividad control.

El comportamiento es paralelo en la fase del tratamiento para ambos neurolépticos, en relación a la actividad enzimática MAO.

5.2.4. VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN DIENCEFALO POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL

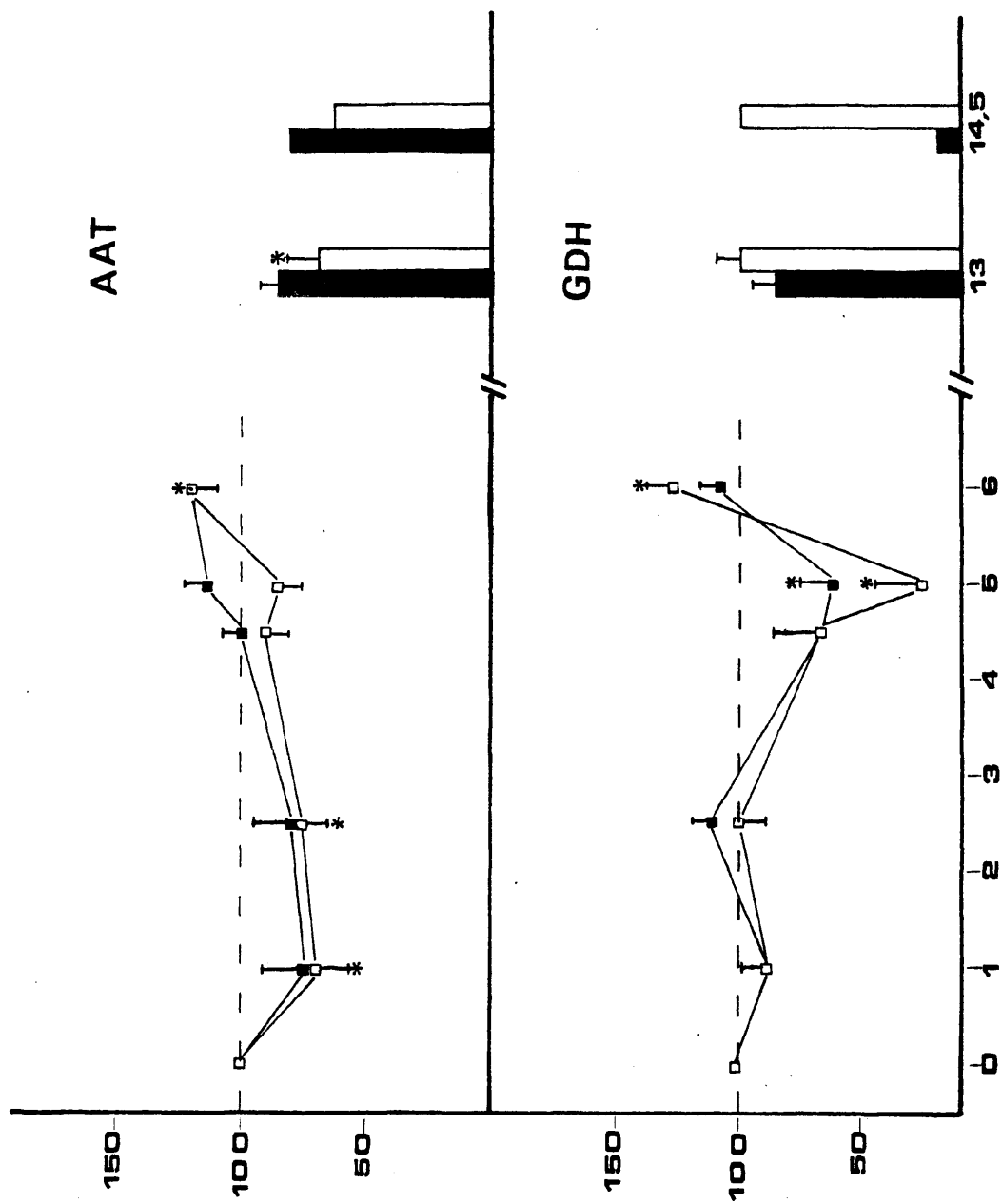
5.2.4.1. Variaciones de la actividad enzimática GDH (Gráfica 14)

Las actividades GDH para los animales tratados con Hal y CPZ, durante el primer mes de tratamiento disminuyen un 10% con respecto a la actividad GDH control. A los 2,5 meses de tratamiento la actividad GDH para los animales tratados con Hal aumenta y rebasa un 10% el nivel de actividad control, y la actividad GDH para los animales tratados con CPZ se iguala al valor control. En los 2 meses siguientes, ambas actividades disminuyen hasta un 30% por debajo del valor control. Al quinto mes de tratamiento, la actividad GDH para los animales tratados con Hal disminuye algo con respecto al periodo anterior (38%) y la actividad GDH para los tratados con CPZ también disminuye hasta un 75% por debajo del valor de actividad control.

En el último mes de tratamiento ambas actividades aumentan y rebasan entre 8-18% el valor de actividad enzimática control.

A los 7 meses de interrupción del tratamiento las actividades GDH en los animales tratados (CPZ y Hal) disminuyen, hasta un 12% por debajo del valor control en los tratados con Hal y lo igualan los tratados con CPZ. A los 8,5 meses de post-tratamiento la actividad GDH para los animales tratados con Hal disminuye hasta un 90% por debajo del valor control y la de los animales tratados con CPZ se mantiene como en el periodo anterior.

El comportamiento de ambos fármacos con respecto a la actividad enzimática GDH en esta región del cerebro es paralelo en la fase del tratamiento.



GRAFICA 14.- Variaciones de las actividades enzimáticas AAT y GDH en Diencéfalo, obtenidas durante los tratamientos y en recuperación espontánea

D—O Tratamiento con CPZ (2mg/Kg)

■—■ Tratamiento con HAL (2mg/Kg)

Se representan las variaciones porcentuales con respecto a los controles frente a los meses de tratamiento.

5.2.4.2. Variaciones de la actividad enzimática AAT (Gráfica 14)

Las actividades enzimáticas AAT en los animales tratados (CPZ y Hal) durante el primer mes de tratamiento disminuyen entre un 25-30% con respecto al valor de actividad AAT control.

A los 2,5 meses de tratamiento, ambas actividades AAT aumentan ligeramente y a los 4,5 meses de tratamiento, la actividad AAT en los animales tratados con Hal se iguala al valor control, mientras que la de los animales tratados con CPZ aumenta también pero no alcanza el valor control (10%). En el quinto mes de tratamiento la actividad de la enzima en los animales tratados con Hal rebasa un 14% el valor de actividad control y la de los tratados con CPZ disminuye ligeramente con respecto al periodo anterior. En el último mes de tratamiento ambas actividades aumentan y sobrepasan en un 20% el valor de actividad control.

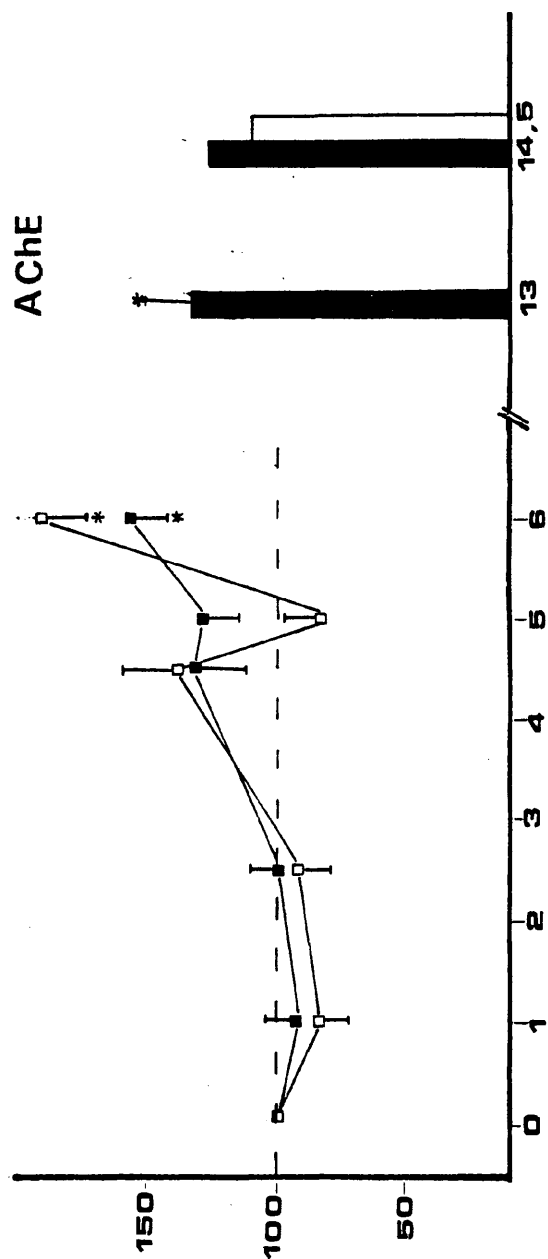
A los 7 meses de la retirada del tratamiento la actividad AAT en los animales tratados ha disminuido, encontrándose la de los tratados con Hal un 13% por debajo del valor control y la de los tratados con CPZ un 30% por debajo del mismo.

A los 8,5 meses de post-tratamiento ambas actividades AAT han vuelto a disminuir (18% para el Hal y 36% para CPZ).

El comportamiento de ambos neurolépticos con respecto a la actividad enzimática AAT en diencéfalo es paralelo en el periodo de observación.

5.2.4.3. Variaciones de la actividad enzimática AChE (Gráfica 15)

En el primer mes de tratamiento las actividades AChE en los animales tratados (CPZ y Hal) se encuentran entre 10-15% por debajo del valor de actividad control. A los 2,5 meses de tratamiento la actividad AChE en los animales tratados con Hal aumenta hasta igualar el valor de actividad control y la actividad enzimática para



GRAFICA 15.- Variaciones de las actividad enzimática AChE, en Diencéfalo, obtenidas durante los tratamientos y en la recuperación espontánea

□-□ Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)

■-■ Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)

Se representan las variaciones porcentuales con respecto a los controles, frente a los meses de tratamiento.

los animales tratados con CPZ, tambien aumenta aunque no alcanza el valor de actividad AChE control.

Durante los 2 meses siguientes, se produce un aumento de la actividad AChE en los animales tratados con ambos fármacos, sobrepasando entre un 30-40% el valor de actividad control.

En el 5º mes de tratamiento, la actividad de la enzima se mantiene en los animales tratados con Hal y disminuye por debajo del valor de actividad control en los tratados con CPZ.

En el último mes de tratamiento, se observa un aumento en la actividad AChE, sobre todo en los animales tratados con CPZ, que sobrepasan en un 90% al valor de actividad control.

Tras la interrupción del tratamiento, la actividad AChE disminuye en los animales tratados con ambos fármacos, quedando a los 8,5 meses de post-tratamiento entre 10-25% por encima del valor de actividad AChE control.

El comportamiento de ambos neurolépticos, con respecto a la actividad enzimática AChE es paralelo en todo el período de observación.

5.2.4.4. Variaciones de la actividad enzimática SDH. (Gráfica 16)

Las actividades SDH en los animales tratados (CPZ y Hal), disminuyen un 10% con respecto al valor de actividad control en el primer mes de tratamiento.

En los 2 meses siguientes, la actividad SDH aumenta ligeramente en los animales tratados con Hal y disminuye hasta un 38% para los tratados con CPZ.

A los 5 meses de tratamiento, la actividad SDH en los animales tratados con Hal alcanza el valor control en el que se mantiene, durante el último mes de tratamiento. En cuanto a la actividad SDH en los animales tratados con CPZ, aumenta y rebasa un 36% el valor de acti

vidad control en el último mes de tratamiento.

Tras 7 meses de interrupción de tratamiento la actividad SDH en los animales tratados con Hal rebasa en un 20% el valor de actividad control, y la actividad SDH en los animales tratados con CPZ disminuye, tendiendo a igualarse a dicho valor.

A los 8,5 meses de post-tratamiento, la actividad SDH en los animales tratados disminuye, quedando entre 9-23% por debajo del valor de actividad control.

El comportamiento de ambos neurolépticos con respecto a la actividad enzimática SDH en Diencéfalo, es paralelo.

5.2.4.5. Variaciones de la actividad enzimática NADH oxido-reductasa. (Gráfica 16).

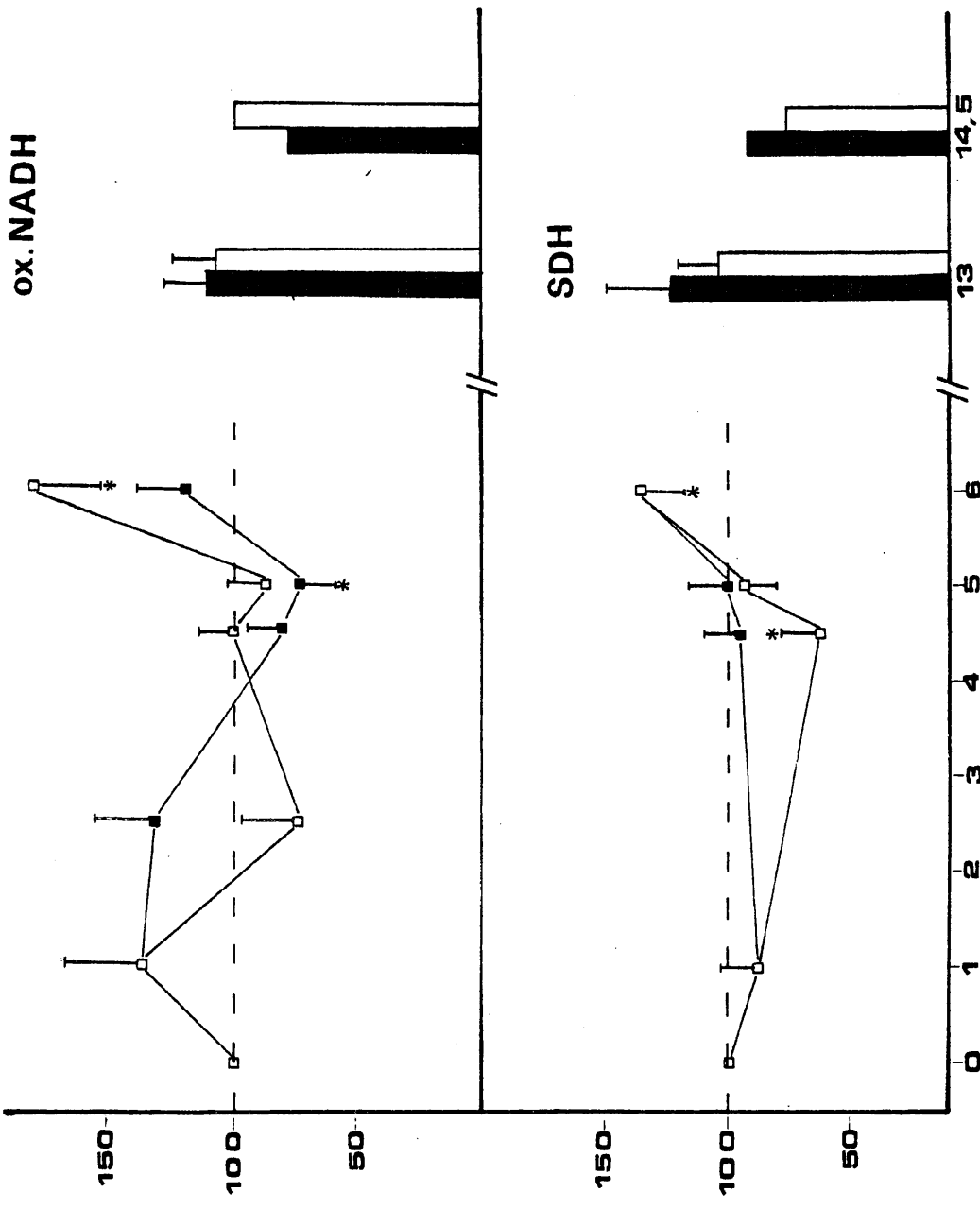
Las actividades NADH en los animales tratados con ambos tipos de neurolépticos, rebasan en un 38% el valor de actividad control en el primer mes de tratamiento.

Tras 2 meses de tratamiento, la actividad NADH en los animales tratados con Hal, se mantiene prácticamente como en el período anterior, y la de los tratados con CPZ disminuye bruscamente a un 26% por debajo del valor control.

A los 4,5 meses de tratamiento, la actividad NADH en los animales tratados con Hal disminuye a un 20% por debajo del valor de actividad control, y la de los tratados con CPZ aumenta hasta igualar dicho valor.

En el 5º mes de tratamiento, la actividad NADH disminuye tanto en los animales tratados con Hal como con CPZ, y en el último mes de tratamiento, la actividad NADH aumenta a un 80% por encima del valor control en los animales tratados con CPZ, y a un 20% en los tratados con Hal.

Tras la retirada del tratamiento, la actividad NADH disminuye



GRAFICA 16.- Variaciones de las actividades enzimáticas oxidación de NADH y SDH en Diencéfalo obtenidas durante el tratamiento y en la recuperación espontánea

□-□ Tratamiento con CPZ (2 mg/Kg)

■-■ Tratamiento con HAL (2 mg/Kg)

Se representan las variaciones porcentuales con respecto a los controles, frente a los meses de tratamiento.

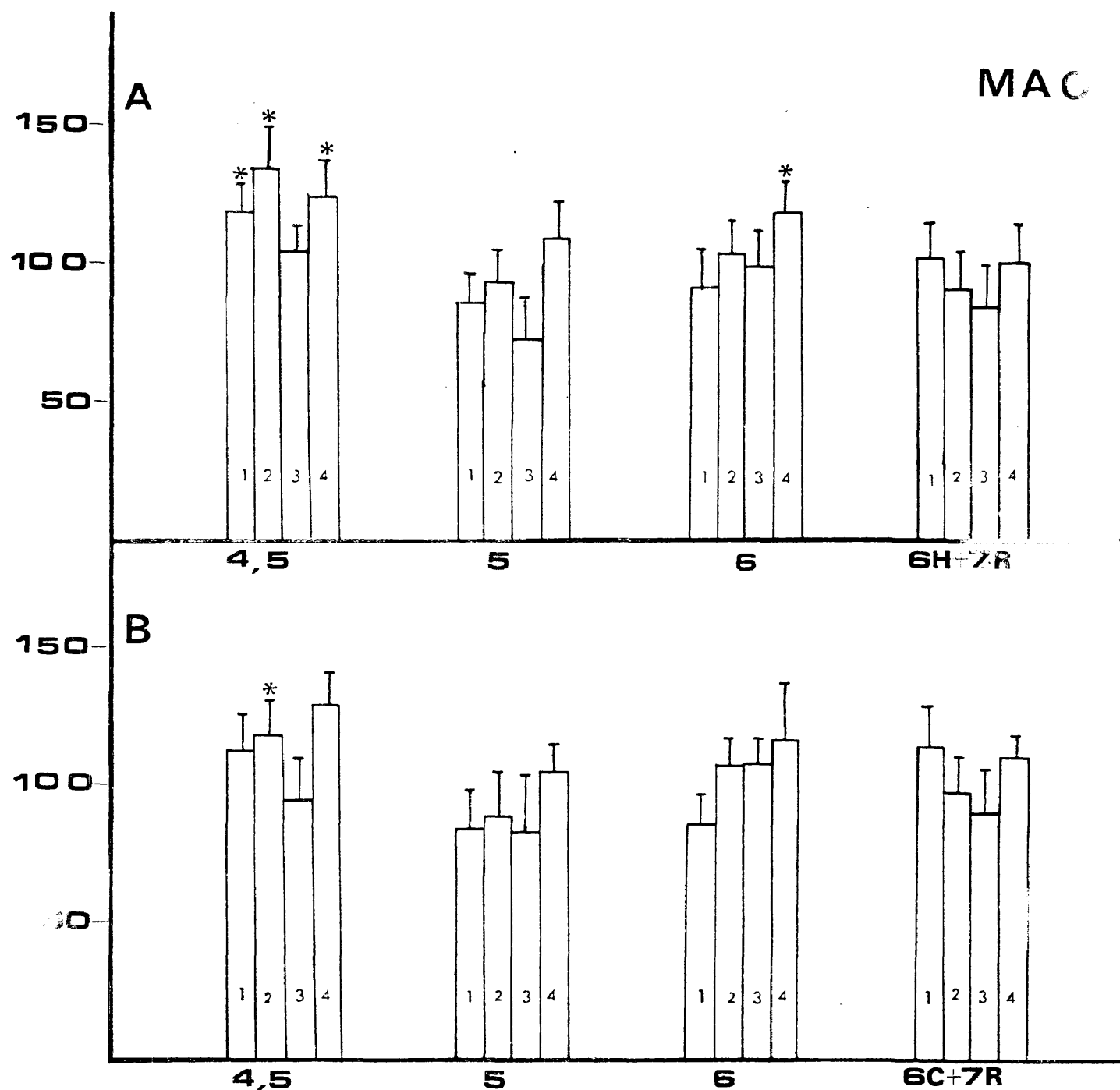
a un 18% en los animales tratados con CPZ y a un 10% en los tratados con Hal, pero ambos valores rebasan el valor de actividad control.

Tras 8,5 meses de retirada del tratamiento, los niveles de actividad NADH en los animales tratados con CPZ se igualan al valor de actividad NADH control, y los de los animales tratados con Hal disminuyen a un 22% por debajo de dicho valor.

5.2.4.6. Variaciones de la actividad enzimática MAO.(Gráfica 17A y B)

A los 4,5 meses de tratamiento, las actividades MAO en los animales tratados, sobrepasan entre un 24-28%, los valores de actividad control; y a los 6 meses de tratamiento se siguen manteniendo los valores de actividad MAO en los animales tratados por encima de la actividad MAO control.

Tras 7 meses de interrupción de tratamiento, la actividad MAO ha disminuído ligeramente en los animales tratados con CPZ, y en los tratados con Hal tiende al valor de actividad control.



GRAFICA 17.- Variaciones de la actividad enzimática MAO en Cerebelo (1), Telencefalo (2), Troncoencéfalo (3) y Diencéfalo (4) en animales tratados con:

A) HAL (2 mg/Kg) durante 4,5, 5 y 6 meses y la recuperación espontánea 6H+7R (6 meses de tratamiento con HAL + 7 meses de recuperación).

B) CPZ (2 mg/Kg) durante 4,5, 5 y 6 meses y la recuperación espontánea 6C+7R (6 meses de tratamiento con CPZ + 7 meses de recuperación).

5.3. ALTERACIONES MORFOLOGICAS.

Las alteraciones ultraestructurales de la corteza cerebelosa producidas por tratamiento con CPZ y Hal, no fueron muy acusadas, y fueron muy similares en ambos casos.

Comienzan a aparecer a los 3 meses de tratamiento, y a los 6 meses se observan las mismas alteraciones, pero de mayor intensidad y frecuencia.

Basicamente, las alteraciones neuronales encontradas fueron:

- En todos los casos se observó un aumento del número de mitocondrias de los glomérulos, que afectó tanto a las dendritas como a la fibra musgosa (fotos 1,2,3). Solo en algunos animales tratados con Hal se observó hipertrofia de la fibra musgosa y disminución del número de dendritas (fotos 4 y 5).

- Tendencia a la hipertrofia de las células de Purkinje, especialmente en el caso del Hal, con pérdida de la forma oval típica de estas neuronas, aparición de invaginaciones en el núcleo (fotos 6 y 7), hipertrofia de sistemas subcisternales tanto en el soma como en las dendritas (fotos 8 y 9), y aparición de gránulos de lipofuscina de tamaño medio.

- En todos los casos, tanto en los animales tratados con CPZ como con Hal, se observó hipertrofia de los terminales de los axones de los cestos sobre el polo basal de las neuronas de Purkinje (foto 10).

- No se observaron alteraciones de las células gliales y de los vasos. Solo en algunas ocasiones, en animales tratados con Hal, se observó mielinización aberrante de las fibras paralelas en la capa molecular.

- No existieron alteraciones hepáticas degenerativas, por lo que los resultados pueden ser asumidos integralmente dentro de "alteraciones producidas por neurolépticos en SNC" y fuera de las intoxicaciones descritas para CPZ.

DISCUSSION

=====

6.- DISCUSION

=====

6.1.- COMENTARIOS GENERALES SOBRE LOS RESULTADOS

6.1.1.- VARIACIONES PONDERALES

No hemos encontrado mucha información relativa a las variaciones de peso corporal por tratamiento crónico a largo plazo con neurolépticos. Nosotros hemos observado una disminución de peso corporal a lo largo del periodo de tratamiento; sin embargo no se ha demostrado que los neurolépticos tengan una acción anorexígena. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Yates y Wilson (1976) y Campbell y Baldessarini (1981) para CPZ y HAL respectivamente, obteniendo estos últimos autores unas gráficas de variación parecidas a las nuestras. Las diferencias en los incrementos de pesos ganados semanalmente por sus animales, con respecto a los nuestros podrían ser debidos a la distinta dosis empleada (3 mg/día).

Existen algunos estudios sobre las variaciones del metabolismo respiratorio por administración de neurolépticos. Allembly y Collier (1952 a,b) demostraron que las fenotiazinas disminuyen la captura de O_2 en homogenados y tejidos animales e inhiben la hexoquinasa en cerebro y SHD en mitocondrias de hígado de rata. Sin embargo Chevillard y col. (1958), demostraron que CPZ no era hipometabolizante y que la administración de dicho fármaco en cobaya producía un aumento del metabolismo respiratorio pero a dosis cortas y elevadas.

Las relaciones entre la estructura química de CPZ y su efecto inhibitorio sobre enzimas como citocromo oxidasa y ATPasa, fueron estudiadas por Bernsehn y col (1956). Dawkins y col. (1959) explicaban los efectos de las fenotiazinas en SNC basándose en sus acciones sobre los sistemas citocromo oxidasa y $NADH_2$ -citocromo c oxidoreductasa. También el efecto inhibitorio de las fenotiazinas sobre el metabolismo respiratorio de las células, fué atribuido a

sus propiedades quelantes (Abood 1955; Bérnsehn y col. 1956; Borg 1962). Se admitía que los componentes de las fenotiazinas competían con los metales de las metaloproteínas, lo que podía ser una explicación de su efecto inhibitorio. Por otro lado, Bacile y Medina (1962) demostraron que los efectos inhibitorios mostrados por las fenotiazinas sobre la fosforilación oxidativa son comunes a todos los derivados de las fenotiazinas y, además dichos componentes previenen la estimulación de la respiración por 2,4-dinitrofenol en sarcosomas aislados de corazón de cobaya, pudiendo estar implicados en estos efectos la integridad y estructura de los sarcosomas (Medina y Bacile 1964). Más recientemente, Blum (1980) ha demostrado inhibición del metabolismo por tratamiento con CPZ y Chazotte y Van der Kooi (1981) han demostrado que CPZ a dosis altas, inhibe a todos los componentes del sistema de transporte electrónico mitocondrial.

El hecho de que estos trabajos realizados durante períodos cortos de tratamiento y con distintas dosis sugieran una disminución en el metabolismo como consecuencia del tratamiento con CPZ, puede ser debido a una disminución en la actividad del animal (por los efectos tranquilizantes y/o sedativos de estos fármacos), sin relacionarse con un aumento o disminución del peso corporal. Nosotros no hemos determinado las variaciones en el consumo de alimento a largo plazo, pero las alteraciones del comportamiento podrían indicar una disminución en la dieta alimentaria, aunque no se produzca una acción anorexígena directa.

Esta parte de la discusión será nuevamente revisada al tratar la hipertrófia e hiperplasia mitocondrial como respuesta a los déficits respiratorios implicados.

6.1.2.- VARIACIONES EN EL PESO DE LAS MUESTRAS Y CONTENIDO EN PROTEINAS

Existen una serie de estudios sobre los efectos de los neurolepticos sobre la síntesis de proteínas cerebrales.

El efecto inhibitorio del CPZ sobre dicha síntesis se ha estudiado "in vivo" (Shuster y Hannam, 1964) e "in vitro" (Goertz y col., 1972; Jakoubek y col., 1980), usando cerebro total o células aisladas en rata ó ratón.

Shuster y Hannam (1964) demostraron que el efecto inhibitorio de CPZ (5-10 mg/Kg) sobre la incorporación de aminoácidos era indirecto a la concomitante disminución de la temperatura corporal jugando un importante papel. Por otro lado, el efecto inhibitorio de CPZ sobre la síntesis de proteínas en cortes cerebrales puede estar mediado por la interferencia de las fenotiazinas con el sistema generante de ATP (Huang y Daly, 1974). In vitro, en sistemas de células libres sintetizantes de proteínas, CPZ (10^{-5} - 10^{-3} M) no afectaba la incorporación de aminoácidos en los microsomas cerebrales de rata y sin embargo producía inhibición de la incorporación de aminoácidos en los ribosomas de manera concentración-dependiente. Esto era debido a que CPZ se unía al complejo t-RNA - enzima impidiendo la aminoacilación del t-RNA (Goertz y col., 1972). Jakoubek y col., (1980) corroboraron los resultados anteriores por tratamiento agudo con CPZ (5 mg/Kg) en rata, mostrando una variación de la síntesis de proteínas en áreas del cerebro topográficas, diferentes funcionalmente; además sugirieron que CPZ podría interferir con la síntesis de mRNA.

Por otro lado Edström y col (1973b), en su estudio sobre inhibición del transporte axonal por CPZ (0,1-0,5 mM), demostraron que, en contra de lo que cabría esperar, la síntesis de proteínas, que es

un proceso dependiente del aporte local de energia (ATP) a través del metabolismo oxidativo, no era alterada. Ello era debido a que las dosis a las que se producen los efectos de inhibición sobre los procesos glicolíticos y oxidativos son mayores a las utilizadas por estos autores. Hay que hacer notar que tanto en los trabajos realizados in vivo como in vitro, las dosis utilizadas son superiores a las necesarias para obtener efectos fisiológicos. Además los tiempos de medida de la síntesis de proteínas, se realizan entre una hora e intervalos cortos de tiempo (hasta unas 8 horas aproximadamente), a partir de la administración del fármaco.

No hemos encontrado estudios sobre la influencia de tratamiento crónico con neurolepticos en la síntesis de proteínas cerebrales. Hemos estudiado, el contenido de proteína por milígramo de tejido (Graficas 3B y 4B) y el contenido total de proteínas (Graficas 3C y 4C) en las muestras empleadas en los estudios bioquímicos: (1) cerebelo, (2) telencéfalo, (3) troncoencéfalo y (4) diencéfalo durante los periodos de tratamiento y tras la retirada del mismo.

En general, observamos que excepto en diencefalo, y durante el periodo de tratamiento, el contenido en proteína en el resto de las muestras varia de forma paralela, tanto en los animales tratados con CPZ como con HAL. Parece lógico, ya que CPZ y HAL son neurolepticos de acción similar. Así, durante el primer mes de tratamiento el contenido en proteínas disminuye con respecto al valor control; sigue disminuyendo hasta los 4,5 meses de tratamiento y a partir de aquí se produce un aumento en el mismo aunque sin llegar a alcanzar el valor control al final del tratamiento. Por el contrario, en diencéfalo se observa un aumento en el contenido de proteínas durante el período de tratamiento, que se iguala al valor control al final de dicho período.

Tras la interrupción del tratamiento, se observa en todas las muestras excepto en telencéfalo, una tendencia a la recuperación e incluso un aumento con respecto al valor control, pero mientras que en los animales tratados con CPZ, la recuperación se produce a los tres meses, en los tratados con HAL se produce a los 7 meses. En telencéfalo, la recuperación en el contenido de proteínas se produce a los 8,5 meses tanto en los animales tratados con CPZ como con HAL.

La brusca disminución que se produce en el contenido de proteínas a los 4,5 meses del tratamiento, no se correlaciona con los pesos de las muestras, lo cual nos induce a pensar que se podría producir un edema en estas zonas ó una mayor imbibición acuosa.

Por otro lado, excepto en telencéfalo, se observa que a los tres meses del cese del tratamiento, en el resto de las muestras en relación a sus pesos hay un fuerte aumento en el contenido de proteínas en los animales tratados con CPZ.

El hecho de que no exista una buena correlación entre pesos de muestras y contenido en proteínas puede ser debido a que las estructuras, excepto el cerebelo, no se pueden delimitar claramente y la técnica de corte puede llevar a errores. Además las variaciones ponderales de las muestras pueden deberse a alteraciones de otros parámetros como disminución de utilización de glucosa cerebral (McCulloch y col., 1982; Pizzolato y col., 1985a,b), alteraciones vasculares (Hannah y col., 1982), vacuolizaciones (Kashiba y col., 1983).

6.2.- RESULTADOS BIOQUIMICOS

6.2.1.- VARIACIONES DE LAS ACTIVIDADES ENZIMATICAS POR TRATAMIENTO CRONICO CON CPZ Y HAL

Se han determinado las siguientes actividades enzimáticas:

SDH, ox-NADH (implicadas en el sistema de transporte electrónico mitocondrial), GDH, AAT (implicadas en los sistemas de transmisión aminoacidérgica, especialmente glutamatérgica); AChE (catabolizador colinérgico) y MAO (enzima catabólica de los sistemas de transmisión aminérgica, DA, NA y 5-HT).

Estas determinaciones se han llevado a cabo en homogenados totales de cerebelo, telencéfalo, troncoencéfalo y diencéfalo, obteniéndose mediante registro continuo en equipos espectrofotométricos y fluorimétricos, ~~gráficas~~ a partir de las cuales se ha calculado la cantidad de sustrato consumido o producto formado que es proporcional a la actividad enzimática en cuestión. Las concentraciones obtenidas por aplicación de la ley de Lambert-Beer vienen expresadas en μ moles/mg de tejido. Por otra parte, se ha determinado por el método de Lowry la concentración protéica (mg de proteína/mg de tejido) en cada una de las fracciones citadas. Dando un valor del 100 a la actividad de los controles se han calculado en tanto por ciento las actividades enzimáticas de los animales tratados con HAL y CPZ

6.2.1.1.- Variaciones de las actividades enzimáticas GDH y AAT.

No existen muchos datos en la literatura científica referentes a las interacciones de los neurolepticos sobre la transmisión mediatizada por Glu. Sin embargo, existen algunos estudios que ponen de manifiesto una acción de los neurolepticos sobre este tipo de sistema neurotransmisor: Collins (1973) y Michalek y col., (1980) observaron que estas sustancias disminuyen los niveles de Glu cerebrales y Faeder y col., (1974) observaron que aumentan su recaptación. Sherman y Mott (1984) encontraron una disminución de la liberación de Glu y de su formación a partir del Glutamina por lo que concluyeron que los neurolepticos disminuyen la hidrólisis de glu-

tamina via glutaminasa. Ninguno de estos trabajos se refiere a la acción de los neurolepticos sobre las actividades GDH y AAT, enzimas claves de la neurotransmisión por Glu.

Para poder discutir las implicaciones que estas observaciones tienen en las funciones del SNC y sus relaciones con nuestros resultados, es necesario tener en cuenta el fenómeno de la compartimentación metabólica del glutamato. Haslam y Krebs (1963) postularon que la catabolización de Glu por la GDH sólo representa el 15% de la realizada por la transaminación, siendo inducible la enzima en condiciones en que aumenta la oferta de Glu (Mc Ilwain, 1970). Ya que su papel catabólico puede ser mínimo, se pensó que la enzima funciona fisiológicamente hacia la síntesis de Glu (Berl y col., 1961, 1962). Estos hechos, unidos a los altos niveles de metabolización por la AAT (80%), indicaría que ambas enzimas pueden regir distintos mecanismos de consumo y reducción del aminoácido, lo que tendria gran importancia en la función neurotransmisora del Glu.

El hecho de que GDH actue como enzima sintetizante de Glu en sentido teórico y termodinámico inverso a la función de las deshidrogenasas, se basa fundamentalmente en los estudios sobre compartimentación metabólica celular realizada con isótopos (Berl y col., 1961, 1962, 1970 y Van der Berg y col., 1969, 1970). En ellos se definen dos compartimentos: catabólico y biosintéticos. La enzima clave del primero seria la AAT, con clara función de metabolización de Glu. El compartimento biosintético sería el encargado de formar Glu por acción de la GDH.

Estos compartimentos no son equivalentes a una estructura suhcelular, sino que deben corresponder a diferentes células o regiones celulares, puesto que hay en ambos componentes mitocondriales con ciclos, sistemas enzimáticos y enzimas similares, pero de función global distinta (Van der Berg y col., 1969).

En cerebelo, nosotros hemos observado una tendencia a la disminución de la actividad GDH y AAT (aunque esta última no tan acusada), que es muy similar en los animales tratados con HAL y CPZ. Teniendo en cuenta el fenómeno de la compartimentación metabólica del Glu y las observaciones de otros autores, la explicación que podriamos dar a nuestros resultados es que la disminución generalizada de los niveles de Glu podría ser debida a una acción directa de los neurolepticos sobre el enzima GDH. Este efecto también lo hemos observado en las demás zonas del SNC estudiadas aunque con diferente intensidad. En el caso del diencéfalo y telencéfalo, se produce tras 5 meses de tratamiento una elevación de esta actividad enzimática, que podría ser debida a un efecto de rebote. En todas las zonas estudiadas se observó así mismo una tendencia a la disminución de la AAT, que podría ser una disminución de actividad debida a la disminución del sustrato disponible.

No lo hemos estudiado nosotros, aunque existen datos en la literatura (Shemisa y Fahien, 1970), sobre la posible acción directa de los neurolepticos sobre la actividad GDH. Sin embargo, asumiendo que estas sustancias producen una disminución de la neurotransmisión por Glu, y de los niveles del aminoácido, al ser la GDH una enzima inducible, debería estar aumentada en su actividad. Pero también podría ocurrir que la disminución de los niveles de Glu no sea debido a una acción directa de estos fármacos, sino que fuese consecuencia de sus efectos sobre la actividad GDH.

Pensamos que los efectos sobre GDH tienen también relación con su papel en el metabolismo general, ya que hemos encontrado una relación entre los cambios sobre GDH y sobre SDH. La actividad SDH también mostró una tendencia a la disminución en todas las zonas estudiadas, con efecto de rebote a los 5 meses de tratamiento en el caso del telencéfalo y diencéfalo. Sin embargo, las variaciones de

.

estas actividades enzimáticas, no guardan relación con el hecho observado por nosotros de que se produce un aumento generalizado del número de mitocondrias en el cerebelo.

Al cesar los tratamientos, en el caso del cerebelo se produce un retorno a los valores control de las actividades DH y AAT y esta recuperación es variable en las demás zonas estudiadas, lo que da idea de que pudieran existir ciertas variaciones debido a la organización funcional.

6.2.1.2.- Variaciones de la actividad enzimática AChE

Son bastante abundantes los estudios existentes en la literatura científica sobre las acciones de los neurolepticos sobre neurotransmisión colinérgica. Se ha puesto de manifiesto que estas sustancias producen un incremento de la dinámica de ACh y un aumento de su síntesis en estriado y cortex occipital (Stadler y col., 1973; Trabuchi y col. 1974), postulándose que este efecto es debido a un aumento de la actividad de neuronas colinérgicas, más que a una acción anticolinesterasa o a un bloqueo de receptores colinérgicos, que sería indirecta a la acción de los neurolepticos sobre neuronas dopaminérgicas (Snyder, 1974). Argov y Yaari, (1979) obtuvieron resultados contradictorios con los anteriores en el sentido de que CPZ actúa directamente sobre la liberación de ACh desde los terminales nerviosos presinápticos e interacciona específicamente con la membrana postsináptica por bloqueo directo del receptor.

No han sido estudiados en profundidad los efectos de los neurolepticos sobre la actividad AChE, especialmente en tratamientos a largo plazo. Se ha especulado mucho sobre si la presencia de AChE en tejido nervioso, podría utilizarse como marcador de neuronas colinérgicas. El desarrollo de técnicas histoquímicas empleando b-(1 metiletil) fosfofluoridato (DFP), un inhibidor de AChE, ha permiti-

do demostrar el valor de la enzima en la identificación de neuronas colinérgicas (Butcher y Woolf, 1982a,b), ya que parece que la sintesis mas activa de la enzima coincide con neuronas colinérgicas y alto almacenamiento de ACh. Por otra parte, las técnicas inmunohistoquímicas y bioquímicas para ChAT, han sido desarrolladas muy recientemente, y en la actualidad existe una gran discrepancia entre los trabajos publicados en cuanto a la distribución de ChAT en SNC (Houser y col., 1983; Armstrong y col., 1983), lo que enfatiza el valor de las determinaciones bioquímicas e histoquímicas de AChE en los estudios sobre neurotransmisión colinérgica.

Hemos observado que por tratamiento con neurolepticos se produce en las primeras etapas del tratamiento, una disminución de la actividad AChE, en cerebelo, troncoencéfalo, telencéfalo y diencéfalo aunque de distinta intensidad. Las variaciones de la actividad AChE fueron muy similares en los animales tratados con CPZ y HAL excepto en el telencéfalo, lo que nos lleva a pensar que los mecanismos implicados en la disminución de la actividad AChE son similares en el caso de CPZ y HAL. Podria producirse una acción directa de estas sustancias sobre la actividad AChE, bien de tipo directa o bien a través de sus interacciones con neuronas dopaminérgicas, que produciría una disminución de su actividad, que unida al incremento de síntesis y dinámica de ACh podria producir un aumento de los niveles del neurotransmisor.

A partir de los tres meses de tratamiento se produce una tendencia al incremento de la actividad enzimática que fué muy significativa en el caso del cerebelo, y que tuvo lugar tanto en los animales tratados con CPZ como con HAL, con posterior retorno al valor control. Podria ser debido a un mecanismo de "escape" a estos efectos, con posterior desarrollo de tolerancia, que se produce en tratamientos prolongados. En la literatura no se han estudiado en

ningún caso los efectos que los tratamientos a largo plazo con neurolépticos producen sobre la -dinámica y síntesis de ACh, por lo que no podemos discutir si a partir de los tres meses de tratamiento se produce algún cambio en estos parámetros, que pueda apoyar o contradecir nuestras observaciones.

Al cesar el tratamiento se produce en todos los casos, un retorno al valor control de la actividad enzimática AChE, lo que indica que los efectos de los neurolépticos sobre esta enzima son de tipo reversible.

6.2.1.3.- Variaciones de la actividad enzimática MAO

Numerosos trabajos muestran una acción diferente de los neurolépticos sobre el metabolismo de aminos sobre diferentes regiones del cerebro (Fekete y col., 1974; Fuxe y col., 1975; Westerink y col. 1977). Algunos de estos trabajos sugieren una aumento del metabolismo de DA en el area estriatal por lo bloqueo de receptores dopaminérgicos via activación feedback de un circuito neuronal (Carlson y Lindvquist, 1963; Korf y col., 1977), mientras que la existencia de un circuito de retroalimentación negativa en las áreas corticofrontal y límbica es más controvertida (Premont y col., 1977; Argiolas y col., 1979; Wite y Wang, 1982).

En el sistema noradrenérgico, los neurolépticos también estimulan el metabolismo de NA vía metabolismo feedback mediado por receptores noradrenérgicos (Carlson y Lindvquist, 1963; Gey y Pletcher, 1968; Andén y col, 1970).

la existencia de mecanismos presinápticos (Bunney y col 1963; Di Chiara y col., 1977; Gallager y col., 1978; Meller y col., 1979), así como la de mecanismos postsinápticos (Zivcovic y col., 1975; Scatton y col., 1976; Bacopoulos y col., 1978) implicados en la activación feedback es diferente según las áreas del cerebro a estudiar.

Todo esto podría tener implicaciones en los resultados obtenidos por nosotros, midiendo la actividad de MAO. Los trabajos a los que nos hemos referido anteriormente han sido realizados con tratamientos agudos o crónicos a corto plazo. Nosotros hemos tratado de estudiar las variaciones de la actividad MAO por tratamiento crónico a largo plazo con CPZ y HAL. Las variaciones en la actividad MAO son similares tanto en los animales tratados con CPZ como con HAL. A los 4,5 meses de tratamiento, la actividad MAO en cerebelo, telencéfalo, troncoencéfalo y diencéfalo aumenta con respecto al valor control, excepto en troncoencéfalo por tratamiento con CPZ, que ha disminuido ligeramente. A los 5 meses de tratamiento la actividad MAO disminuye en todas las muestras excepto en diencéfalo, que practicamente no varia. Al final del periodo de tratamiento, la actividad MAO aumenta, excepto en cerebelo. Tras 7 meses de interrupción del tratamiento, la actividad MAO ha aumentado con respecto al valor control, en todas las muestras excepto en troncoencéfalo en donde el valor de la actividad es igual al valor control.

Los resultados obtenidos indican que practicamente, tanto durante el tratamiento como tras la retirada ~~del~~ mismo, hay un aumento de la actividad MAO con ligeras fluctuaciones lo cual podría ser una consecuencia de los efectos de los neurolepticos sobre el aumento de los niveles DA. También, como ya observaron Owen y col. (1980), el bloqueo crónico de los receptores de DA, produce un síndrome hiperquinético que se traduce en una supersensibilidad de dichos receptores, la cual persiste tras la retirada del tratamiento. Esta alteración ha sido asociada con un incremento en el número de sitios de unión de los receptores de DA. El hecho de que, tras 7 meses de recuperación, persista el aumento de los niveles de actividad MAO, excepto en troncoencéfalo, podría ser debido a ello.

6.2.1.4. Variaciones de las actividades enzimáticas SDH y ox. NADH.

Existen algunos estudios en la literatura científica, sobre el metabolismo de glucosa cerebral en rata, por administración de neurolépticos a corto (McCulloch y col., 1982) y largo plazo (Pizzolato y col., 1985a). En general, el Hal reduce la utilización local de glucosa cerebral de manera dosis y tiempo dependiente, en regiones del cerebro que comprenden vías dopaminérgicas y también en otras regiones no dopaminérgicas. Sin embargo, en nucleus accumbens y sustancia negra, se produce un incremento en la utilización de glucosa cerebral. Mediante tratamiento crónico, se desarrolla tolerancia al efecto del Hal sobre el metabolismo de glucosa cerebral en el sistema nigroestriatal y en algunas estructuras mesolímbicas, pero no en el sistema mesocortical (Pizzolato y col., 1985a).

Pizzolato y col. (1985b), obtuvieron una reducción de los efectos del Hal, sobre el metabolismo local de glucosa cerebral en rata a lo largo de la vida del animal, lo que asociaron a déficits de la neurotransmisión dopaminérgica edad-dependiente.

Nosotros hemos observado que en el primer mes de tratamiento la actividad NADH en cerebelo, troncoencéfalo y diencéfalo aumenta mientras que en telencéfalo se mantiene igual al valor de actividad control, en los animales tratados con Hal y disminuye en los tratados con CPZ. A partir del primer mes de tratamiento, la actividad NADH de cerebelo, troncoencéfalo y diencéfalo, presenta grandes fluctuaciones. En telencéfalo, la actividad NADH, se mantiene con menos variaciones.

Todas las muestras tienden a la recuperación, e incluso a un aumento de actividad NADH, al final del período de tratamiento.

En cuanto a la actividad SDH, prácticamente se mantiene por debajo de los valores de actividad control, durante todo el período de tratamiento, para terminar al final del mismo, si no por enci-

ma del valor de actividad control, con una tendencia a aumentar.

Estas variaciones se podrían deber a una acción directa de CPZ y Hal sobre SDH y quizás también sobre NADH, pero esta última enzima presenta grandes variaciones individuales que nos induce a pensar en la implicación de otros factores, como disminución en la captura de O_2 (Allembly y Collier 1952), disminución del consumo de glucosa cerebral así como a alteraciones de otros parámetros por ej. de la temperatura (Shuster y Hannam 1964; Chevillard y col., 1958; Kirpatrick y Comax 1971; Trzinka y col., 1978); alteraciones en las membranas (Kwant y Seeman 1969; Broman y col., 1970 y Breton y col., 1977).

Tras 7 meses de interrupción del tratamiento, se observa una recuperación de actividad NADH en todas las muestras, excepto en troncoencéfalo, y en la última etapa, mientras que las muestras tratadas con CPZ se mantienen, las tratadas con Hal disminuyen con respecto a la actividad control.

En cuanto a la actividad SDH, tras 7 meses de interrupción de tratamiento, se aprecia una recuperación en todas las muestras y en algunas se rebasa el valor control. La tendencia a la recuperación, podría indicar que las alteraciones son de tipo reversible.

En un sentido general se puede considerar que la acción, produce un desequilibrio entre las actividades SDH y GDH. A las teorías iniciales de que existían unas relaciones estables cadena mitocondrial respiratoria/ deshidrogenasas mitocondriales en cada célula, la teoría de la compartimentación muestra que estas relaciones pueden mantenerse o no, pero ser la base de ciertas funciones transmisoras y tener un dinamismo propio e interdependiente.

Finalmente, se postularon diferentes "pool" o conjuntos de mitocondrias con distintos niveles de GDH y SDH (Neidle y col., 1969; Reijnierse y col., 1975).

Nosotros pensamos que las diferencias entre las regiones se deben a la diferente respuesta de compartimentos morfofuncionales representados por células gliales, dendritas, soma y axones de neuronas, y/o diferentes grupos de neuronas o complejos sinápticos.

6.3. ALTERACIONES MORFOLOGICAS.

Existen en la literatura científica una serie de trabajos, sobre las alteraciones morfológicas producidas por los neurolépticos en SNC.

Así, CPZ interfiere con el transporte axoplásmico in vitro (Edstrom y col., 1973a) e in vivo (Edstrom y col., 1973b). Este hecho, junto con las alteraciones estructurales y funcionales que produce en el complejo de Golgi (Thyberg y col., 1977), se ha atribuido a su capacidad para producir la despolimerización de microtúbulos, por interacción con la subunidad de proteína tubulina - (Cann y Hinman 1975; Rao y Cann 1981).

Tambien se ha demostrado un incremento en el número de mitocondrias, en el sistema hipotálamo-neurohipofisial de rata (Edstrom y col., 1973b).

Benes y col. (1983, 1985 a, b) han demostrado una serie de alteraciones morfológicas producidas por tratamiento crónico con Hal en sustancia negra, estriado y cortex de rata. Así, en SN se produce un aumento en el número de terminales axónicos; en estriado se produce un aumento en el tamaño de dichos terminales, con un concomitante aumento del número de vesículas sinápticas, y en cortex no aparecen diferencias en el tamaño de los terminales axónicos, ni en el número de vesículas sinápticas.

Ninguno de estos trabajos se refieren a alteraciones morfológicas en cerebelo. Nosotros hemos observado que en cerebelo, las alteraciones comienzan a aparecer a los 3 meses de tratamiento,

aumentando en intensidad y frecuencia con el tiempo.

Las alteraciones mas relevantes han sido: Aumento en el número de mitocondrias en los glomérulos (fotos 1,2 y 3) tanto en las dendritas como en la fibra musgosa, e hipertrofia de los terminales de los axones de los cestos sobre el polo basal de las neuronas de Purkinje (foto 10).

El aumento en el número de mitocondrias se podría interpretar del siguiente modo:

La disminución que observamos en la actividad SDH y en la respiración (Dawkins y col., 1959; Chazotte y Vanderkooi 1981), podría producir como fenómeno reactivo un aumento en la síntesis de mitocondrias (hiperplasia), así como mitocondrias mayores (hipertrofia). Esto unido a la despolimerización de microtúbulos y a la falta de transporte axonal que se produce como consecuencia del tratamiento con neurolépticos, produciría una acumulación somática de mitocondrias. Sin embargo, hemos observado que en las dendritas de los granos y en las musgosas se acumulan grandes mitocondrias; pero el que se produzca acumulación somática de mitocondrias no impide acumulación en los terminales. Este caso, ¿podría representar también una vida media mayor de la mitocondria sintetizada?.

En cuanto a la hipertrofia de los terminales de las células cesto, también ha sido observada por Benes y col. (1985a), en estriado de rata. Este cambio estructural se podría discutir como el equivalente morfológico a los cambios bioquímicos que se producen en los niveles del sistema neurotransmisor (GABA probablemente), implicado en las sinapsis de esta zona del cerebelo por tratamiento crónico con neurolépticos.

También podrían estar implicados otros sistemas neurotransmisores.

RESUMEN

7.- RESUMEN

=====

Se ha realizado un estudio a nivel bioquímico de las alteraciones inducidas por tratamiento crónico a largo plazo con CPZ y HAL en diversas regiones del SNC (cerebelo, telencéfalo, troncoencéfalo y diencéfalo). Se han estudiado las variaciones de las actividades enzimáticas implicadas en la neurotransmisión glutamatérgica (GDH y AAT), colinérgica (AChE) y aminérgica (MAO) y en el metabolismo energético (oxNADH y SDH).

Con objeto de completar este trabajo hemos realizado un estudio a nivel morfológico, de las alteraciones producidas por estos fármacos en corteza cerebelosa. Se ha elegido el cerebelo por ser una estructura en la que los sistemas neurotransmisores fundamentales no son aminérgicos.

Los resultados más relevantes han sido:

- 1) Alteraciones en las actividades enzimáticas AAT, GDH y AChE con diferente grado de variabilidad según la zona del SNC estudiada.
- 2) Alteraciones de las actividades enzimáticas implicadas en el metabolismo general (SDH y oxNADH) que también muestran diferente grado de variabilidad según la región del SNC.
- 3) Alteraciones morfológicas, fundamentalmente hiperplasia e hipertrofia mitocondrial y ligeros cambios en la ultraestructura de algunos tipos neuronales del cerebelo.

CONCLUSIONES

=====

8.- CONCLUSIONES

=====

- 1) El tratamiento crónico a largo plazo con CPZ y HAL, produce alteraciones de los sistemas neurotransmisores glutamatérgico y colinérgico en cerebelo, telencéfalo, troncoencéfalo y diencéfalo, al producir profundas variaciones en las actividades enzimáticas.
- 2) Estas alteraciones son variables según la región del SNC de que se trate y comienza a aparecer a partir del primer mes de tratamiento.
- 3) Existen también variaciones en el metabolismo general (SDH y oxNADH), en las regiones estudiadas, relacionadas con la hipertrofia e hiperplasia mitocondrial encontradas en cerebelo.
- 4) Al cesar el tratamiento hay una tendencia variable a la recuperación de las actividades enzimáticas que depende de la zona del SNC de que se trate.
- 5) Las alteraciones encontradas ponen de manifiesto que se deben estudiar en profundidad las acciones de los neurolepticos sobre los sistemas neurotransmisores glutamatérgico y colinérgico, pues constituyen una base suficiente para demostrar cambios en estos sistemas.

BIBLIOGRAFIA
=====

9.- BIBLIOGRAFIA.

- ABOOD L.G. (1955) : "Effect of chlorpromazine on phosphorilation of brain mitochondria". Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 88: 688-690.
- ADAMS J.C. (1979). "Ascending projections to the inferior colliculus". J. Comp. Neurol. 183: 519-538.
- ADER J-P; ROOPE P.; POSTEMA F. y KORF J. (1980). "Bilaterally diverging axon collaterals and contralateral projections from rat locus coeruleus neurons, demonstrated by fluorescent retrograde double labeling and norepinephrine metabolism". J. Neur. Transm. 49: 207-218.
- AHLENIUS S. (1980). "Enhanced suppression of a conditioned avoidance response by Haloperidol but not Phenoxybenzamine in rats with bilateral parafascicular lesions". Exp. Brain Res. 40: 164-169.
- AHLENIUS S. y ENGEL J. (1974). "Potentiation by lithium of the haloperidol-induced behavioural suppression". J. Neur. Trans. 35: 83-86.
- AHLQUIST R. P. (1948). "A study of the adrenotropic receptors". Am. J. Physiol. 153: 586-600.
- AKAGI K. y POWELL E. W. (1968). "Differential projections of habenular nuclei". J. Comp. Neurol. 132: 263-274.
- ALGER B.E. y NICOLL R.A. (1982). "Feed-forward dendritic inhibition in rat hippocampal pyramidal cells studied in vitro". J. Physiol. (London). 328: 105-123.
- ALLEMBY G. M. y COLLIER H. B. (1952a). "Enzyme inhibition by derivatives of phenothiazine. V. Inhibition of rat brain hexokinase by phenothiazine". Canad. J. Med. Sci. 30: 549-551.
- ALLEMBY G. M. y COLLIER H. B. (1952b). "Enzyme inhibition by derivatives of phenothiazine. IV. Inhibition of succinoxidase activity of rat-liver mitochondria". Canad. J. Med. Sci. 30: 443-446.
- AL-SHABIBI U. M. y DOGGETT N.S. (1978). "On the central noradrenergic mechanism involved in haloperidol-induced catalepsy in the rat". J. Pharm. Pharmacol. 30: 529-531.

- ALTMAN J. Y DAS G. D. (1970). "Postnatal changes in the concentration and distribution of cholinesterase in the cerebellar cortex of rats". Exp. Neurol. 28: 11-34.
- ANDEN N.E. (1971). "In: Monoamines Noyaux Gr. Centraux et Syndrome de Parkinson" pp. 61-72.
- ANDEN N-E; BUTCHER S.G.; CORRODI H.; FUXE K. Y UNGERSTED U. (1970). "Receptor activity and turnover of dopamine after neuroleptics". Eur. J. Pharmacol. 11: 303-314.
- ANDEN N-E; DAHLSTRÖM A.; FUXE K.; LARSSON K.; OLSON L. Y UNGERSTED U. (1966). "Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon". Acta Physiol. Scand. 67: 313-326.
- ARGIOLOS A.; FADDA F.; MELIS M.R.; SERRA G. Y GESSA G.L. (1979). "Chronic haloperidol causes persistent increase in 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) concentration in the substantia nigra but not in the ventral tegmental area". Brain Res. 175: 178-182.
- ARGOV Z. Y YAARI Y. (1979). "The action of chlorpromazine at an isolated cholinergic synapse". Brain Res. 164: 227-236.
- ARIMA T.; MAKIHATA J.; MAKIMURA T.; NOMURA Y. Y SEGAWA T. (1986). "Effects of zotepine, chlorpromazine and haloperidol on D-1, D-2, D-3, D-4 subtypes of dopamine receptors in rat striatal and bovine caudate nucleus membranes". Neurochem. Internat. 8 : 559-564.
- ARIMATSU Y.; SETO A.; AMANO T. (1978). "Localization of α -bungarotoxin binding sites in mouse brain by light and electron microscopic autorradiography". Brain Res. 147: 165-169.
- ARIMATSU Y.; SETO A.; AMANO T. (1981). "Atlas of α -bungarotoxin binding sites and structures containing acetylcholinesterase in mouse nervous system". J. Comp. Neurol. 198: 604-631.
- ARMSTRONG D.M.; SAPER C.B.; LEVEY A.I.; WAINER B.H. Y TERRY R.D. (1983). "Distribution of cholinergic neurons in rat brain: demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase". J. Comp. Neurol. 216: 53-58.

- AZMITIA E.C. Y SEGAL M. (1978). "An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat". J. Comp. Neurol. 179: 641-668.
- BACILE M. Y MEDINA M. (1962). "Inhibition by phenothiazinic compounds of the effect of 2,4-dinitrophenol on the respiration of heart muscle sarcosomes". Nature (London) 194: 547-548.
- BACOPOULOS N.G.; BUSTOS G.; REDMOND D.E.; BOULU J. Y ROTH R.H. (1978). "Regional sensitivity of primate brain dopaminergic neurons to haloperidol: Alterations following chronic treatment". Brain Res. 157: 396-401.
- BANNON M.J.; LEE J.M.; GRAUD P.; YOUNG A.; AFFOLTER H.V. Y BONNER T.J. (1986). "Dopamine antagonist haloperidol decreases substance P, substance K, and prepro tachykinin m-RNAs in rat nigrostriatal neurons". J. Biol. Chem. 261, 15: 6640-6642.
- BANNON M.J.; REINHARD J.F.; BUNNEY E.B. Y ROTH R.H. (1982). "Unique response to antipsychotic drugs is due to absence of terminal autoreceptors in mesocortical dopamine neurones". Nature 296: 444-446.
- BAUGHMAN R.W.; GILBERT C.D. (1980). "Aspartate and glutamate as possible neurotransmitters of cells in layer 6 of visual cortex". Nature (London) 287: 848-850.
- BAUGHMAN R.W. Y GILBERT C.D. (1981). "Aspartate and glutamate as possible neurotransmitter in the visual cortex". J. Neurosci. 1: 427-439.
- BECKSTEAD R.M. (1976). "Convergent thalamic and mesencephalic projections to the anterior medial cortex in the rat". J. Comp. Neurol. 166: 403-416.
- BECKSTEAD R.M. (1979). "An autoradiographic examination of cortico-cortical and subcortical projections of the mediodorsal-projection (prefrontal) cortex in the rat". J. Comp. Neurol. 184: 43-62.
- BELESLIN D.B.; JOVANIVIĆ-MIČIĆ D.; JAPUNDZIĆ N.; TERZIĆ A.M. Y SAMARDZIĆ R. (1985). "Behavioral, autonomic and motor effects of neuroleptic drugs in cats: Motor impairment and aggression". Brain Res. Bull. 15: 353-356.
- BEN-ARI Y.; KANAZAWA I. Y ZIGMON R.E. (1976). "Regional distribution of glutamate decarboxylase and GABA within the amygdaloid complex and stria terminalis system of the rat". J. Neurochem. 26: 1279-1283.

- BENES F.; PASKEVICH P.A.; DAVIDSON J. Y DOMESICK V.B. (1985a). "The effects of haloperidol on synaptic patterns in the rat striatum". Brain Res. 329: 265-274.
- BENES F.; PASKEVICH P.A.; DAVIDSON J. Y DOMESICK V.B. (1985b). "Synaptic rearrangements in medial prefrontal cortex of haloperidol-treated rats". Brain Res. 348: 15-20.
- BENES F.; PASKEVICH P.A.; DOMESICK V.B. (1983). "Haloperidol-induced plasticity of axon terminals in rat substantia nigra". Science 221: 969-971.
- BERGER B.; THIERRY A.M.; TASSIN J.P.; MOYNE M.A. (1976). "Dopaminergic innervation of the rat prefrontal cortex; A fluorescence histochemical study". Brain Res. 106: 133-145.
- BERL S.; LAJTHA A. Y WAELSCH H. (1961). "Aminoacid and protein metabolism. IV. Cerebral compartments of glutamic acid metabolism". J. Neurochem. 7: 186-197.
- BERL S.; NICKLAS W.J. Y CLARKE D.D. (1970). "Compartmentation of citric acid cycle metabolism in brain; labelling of glutamate, glutamine, aspartate and GABA by several radioactive metabolites". J. Neurochem. 17: 1009-1015.
- BERL S.; TAKAGAKI G.; CLARKE D.D. Y WAELSCH H. (1962). "Metabolic compartment in vitro. Ammonia and glutamic acid metabolism in brain and liver". J. Neurochem. 237: 2562-2569.
- BERNSEHN J.; NAMAJUSKA I.; COCHRANE L.S.G. (1956). "Inhibition of brain cytochrome oxidase and ATPase by chlorpromazine analogues". Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 92: 201-203.
- BERTHELSEN S. Y PETTINGER W.A. (1977). "A functional basis for classification of alpha-adrenergic receptors". Life Sci. 21: 595-606.
- BIGL V. Y SHOBER W. (1977). "Cholinergic transmission in subcortical and cortical visual centers of rats: no evidence for the involvement of primary optic system". Exp. Brain Res. 27: 211-219.
- BIGL V.; WOOLF N.J.; BUTCHER L.L. (1982). "Cholinergic projections from the basal forebrain to frontal, parietal, temporal, occipital and cingulate cortices: a combined fluorescent tracer and acetylcholinesterase analysis". Brain Res. Bull. 8: 727-749.

- BLUM J.J. (1980). "Effect of chlorpromazine on active transport of amino acids in *Tetrahymena*". J. Protozool. 27: 498-502.
- BOBILLIER P.; SEGUIN S.; PETITJEAN F.; SALVERT D.; TOURET M. Y JOUVET M. (1976). "The raphe nuclei of the cat brain stem: A topographical atlas of their efferent projections as revealed by autoradiography" Brain Res. 113: 449-486.
- BORG D.C. (1961) . " Chemical and physiological specificity in metal-binding: A model metal-phenothiazine system involving a free-radical component". Fed. Proc. 20: 104-109.
- BRADFORD H.F. Y RICHARDS C.D. (1976). " Specific release of endogenous glutamate from piriform cortex stimulated in vitro". Brain Res. 105: 168-172.
- BRETON J.; VIRET J. Y LETERRIER F. (1977). "Calcium and chlorpromazine interactions in rat synaptic plasma membranes". Arch. Biochem. Biophys. 179: 625-633.
- BROMAN C.F.; BUNGE M.B. Y MURRAY M.R. (1970). "The response of lysosomes in cultured neurons to chlorpromazine". J. Neuropath. exp. Neurol. 29: 337-340.
- BROMBERG M.B; PENNEY J. B. Jr.; STEPHENSON B. S. Y YOUNG A.B. (1981). "Evidence for glutamate as the neurotransmitter of corticothalamic and corticorubral pathways". Brain Res. 215:369-374.
- BROZOSKI T.J.; BROWN R.M.; ROSVOLD H.E. Y GOLDMAN P.S. (1979). " Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey" Science 205: 929-932.
- BUNNEY B. S. Y AGHAJANIAN G.K. (1976). "The precise localization of nigral afferents in the rat as determined by a retrograde tracing technique". Brain Res. 117: 423-435.
- BUNNEY B.S. ; AGHAJANIAN G.K. Y ROTH R. H. (1973). "Comparison of effects of L-DOPA, amphetamine and apomorphine on firing rate of rat dopaminergic neurones". Nature 245: 123-125.
- BUNNEY B.S. Y GRACE A.A. (1978). " Acute and chronic haloperidol treatment: Comparison of effects on nigral dopaminergic cell activity". Life Sci. 23: 1715-1728.

- BUNNEY B.S.; WALTERS J.R.; ROTH R.H. Y AGHAJANIAN G.K. (1973). "Dopaminergic neurone: effect of antipsychotic drugs and amphetamine on single cell activity". J. Pharmacol. Exp. Ther. 185: 560-571.
- BÜRKI H.R. (1973). "Metabolismus von dopamin und noradrenalin im hirn der ratte nach akuter und chronischer verabreichung von haloperidol, Loxapin und clozapin". Symposium der Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie (AGNP), Nurnberg.
- BÜRKI H.R.; RUCH W. Y ASPER H. (1975). "Effects of clozapine, thioridazine, perlapine and haloperidol on the metabolism of the biogenic amines in the brain of the rat". Psychopharmacol. 41: 27-33.
- BUTCHER L.L. Y WOOLF N.J. (1982a). "Cholinergic and serotonergic systems in the brain and spinal cord: anatomic organization, role in intercellular communication processes, and interactive mechanisms". En: Buijs R.M., Pevet P., Swaab D.F. (Eds). Chemical Transmission in the Brain, Progress in Brain Research 55: 3-40.
- BUTCHER L.L. Y WOOLF N.J. (1982b). "Monoaminergic-cholinergic relationships and the chemical communication matrix of the substantia nigra and neostriatum" Brain Res. Bull. 9: 475-492.
- CAMPBELL A. Y BALDESSARINI R.J. (1981). "Tolerance to behavioral effects of haloperidol". Life Sci. 29: 1341-1346.
- CANN J.R. Y HINMAN N.D. (1975). "Interaction of chlorpromazine with brain microtubule subunit protein". Mol. Pharmacol. 11: 256-267.
- CARLSSON A. (1975). "Receptor mediated control of dopamine metabolism". En: Usdin E.; Bunney W.E. Jr (Eds). Pre- and Postsynaptic Receptors, 49-65. Marcel Dekker. New York.
- CARLSSON A. Y LINDQVIST M. (1963). "Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain". Acta pharmacol. (Kbh) 20: 140-144.
- CARRATO A. Y MARIN F. (1966). "Ultraestructura y fibras nerviosas en la leptomeninge". Trab. Inst. Cajal. Invest. Biol. LVIII, 69-78.

- CARTER C.J. (1980) ." Glutamatergic pathways from the medial prefrontal cortex to the anterior striatum, nucleus accumbens and substantia nigra". Br. J. Pharmacol. 70: 50p-51p.
- CARTER C. J.(1982)." Topographical distribution of possible glutamatergic pathways from the frontal cortex to the striatum and substantia nigra in rats". Neuropharmacology 21: 379-383.
- CARTER D. A. Y FIBIGER H.C. (1977)." Ascending projections of presumed dopamine containing neurons in the ventral tegmentum of the rat as demonstrated by horseradish peroxidase". Neuroscience, 2:5 69-576.
- CARTER C.J. Y PYCOCK C.J.(1980)." Behavioural and biochemical effects of dopamine and noradrenaline depletion within the medial prefrontal cortex of the rat". Brain Res. 192: 163-176.
- CARVEY P.M. ; KAO L.C.; TANNER C.M.; GOETZ C.G.; Y KLAWS H.L.(1986)." The effect of antimuscarinic agents on haloperidol induced behavioural hypersensitivity." Europ. J. Pharmacol. 120: 193-200.
- CEDARBAUM J.M. Y AGHAJANIAN G.K. (1977)". Catecholamine receptors on locus coeruleus neurons: Pharmacological characterization". Eur. J. Pharmacol. 44: 375-385.
- CHAN- PALAY (1978)."Autoradiographic localization of γ -aminobutyric acid receptors in the rat centralnervous system by using (³H)-muscimol." Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A. 75: 1024-1028.
- CHANG W.H.; YEH E.K.; HU W.H.; TSENG Y.T.; CHUNG M.Ch. Y CHANG H.F.(1986a). "Acute and chronic effects of haloperidol on plasma and brain homovanillic acid in the rat". Biol. Psychiatry, 21: 374-381.
- CHANG W.H.; YEH E.K.; HU W.H.; TSENG Y.T.; CHUNG H.Ch. Y CHANG H.F. (1986b). "Prefrontal cortex possible site of antipsychotic action of haloperidol". Biol. Psychiatry, 21: 422-424.
- CHAZOTTE B. Y VANDERKOOI G. (1981)."Multiples sites of inhibition of mitochondrial electron transport by local anesthetics". Biochim. Biophys. Acta, 636: 153-161.

- CHENEY D.L.; LEFEVRE H.F. Y RACAGNI G. (1975). "Choline acetyltransferase activity and mass fragmentographic measurement of acetylcholine in specific nuclei and tracts of rat brain". *Neuropharmacology*, 14: 801-809.

- CHEUNG W.Y. (1980). "Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation". *Science*, 207: 19-27.

- CHEVILLARD L.; GIORNO H. Y LAURY M. CL. (1958). "Action comparé de quelques vaso dilateurs sur le temperature corporelle et le metabolisme respiratoire chez le cobaye". *C.R. Soc. Biol.* 152: 1074-1077.

- CLOW A.; JENNER P.; THEODOROU A. Y MARSDEN C.D. (1979). "Striatal dopamine receptors become supersensitive while rats are given trifluoperazine for six months". *Nature*, 278: 59-61.

- COLLINS G.G.S. (1973). "Effecy of aminooxyacetic acid, thiosemicarbazide and haloperidol on the metabolism and half- lives of glutamate and GABA in rat brain." *Biochem. Pharmacol.* 22: 101-112.

- COLLINS G.G.S.(1979a)". Amino acid tranmitter candidates of the rat olfactory cortex". *Br. J. Pharmacol.* 66: 109-110.

- COLLINS G.G.S. (1979b). "Effect of chronic bulbectomy on the depth distribution of amino acid transmitters candidates in rat olfactory cortex". *Brain Res.* 171: 552-555.

- COLLINS G.G.S.(1979c). "Evidence of a neurotransmitter role for aspartate and γ -aminobutyric acid in the rat olfactory cortex". *J. Physiol. (London)*, 291: 51-60.

- CONRAD L.C.A. ; LEONARD C.M. Y PFAFF D.W.(1974). "Connections of the median and dorsal raphe nuclei in the rat: An autoradiographic and degeneration study". *J. Comp. Neurol.* 156: 179-206.

- DAHLSTRÖM A. Y FUXE K. (1964)". Evidence for the existence of monamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monamine in the cell bodies of brainstem neurons". *Acta Physiol. Scand.* 62 Suppl . 232:1-55.

- DALSASS M. ; KISER S.; MENDERSHAUSEN M. Y GERMAN G. (1981). "Medial prefrontal projections to the region of the dorsal periventricular catecholamine system". *Neuroscience*, 6: 657-665.

- DAVIES J.A.; JACKSON B. Y REDFERN P.H. (1973). "The effect of anti-Parkinsonian drugs on haloperidol-induced inhibition of the conditioned-avoidance response in rats". *Neuropharmacology*, 12: 735-740.
- DAVIS K.L.; HOLLISTER L.G. Y FRITZ W.C. (1978). "Induction of dopaminergic meso limbic receptor supersensitivity by haloperidol". *Life Sci.* 23: 1543-1548.
- DAWKINS M.J.R.; JUDAH J.D. Y REES K.R. (1959). "The effect of chlorpromazine on the respiratory chain". *Biochem. J.* 72: 204-207.
- DE FEUDIS F.V. (1974). "Central cholinergic systems and behaviour". Academic Press New York.
- DELAY J. Y DENIKER P. (1957). En: *Psychotropic drugs*, edited by S. Garattini and V. Ghelti, pp 485-501. Elsevier, Amsterdam.
- DE LORENZO R.J. (1982). "Calmodulin in neurotransmitter release and synaptic function". *Fed. Proc.* 41: 2265-2272.
- DENIKER P. (1970). "Introduction of neuroleptic chemotherapy into psychiatry". En: *Ayd. F.J. Jr., Blackwell B. (Eds). Discoveries in biological Psychiatry*, pp 155-164. Lippincott, Philadelphia.
- DESCARRIES L.; BEAUDET A. (1978). "The serotonin innervation of adult rat hypothalamus". En: Vincent J.P., Kordon C. (Eds), *Cell Biology of Hypothalamic Neurosecretion*. *Colloq. Int. C.N.R.S.* 80, pp 135-153.
- DI CHIARA G. ; PORCEDDU M.L.; MORELLI M.; MULAS M.L. Y GESSA G.L. (1979). "Evidence for a GABAergic projection from the substantia nigra to the ventromedial thalamus and to the superior colliculus of the rat." *Brain Res.* 176: 273-284.
- DI CHIARA G.; PORCEDDU M.L. ; SPANO P.F. Y GESSA G.L. (1977). "Haloperidol increases and apomorphine decreases striatal dopamine metabolism after destruction of striatal dopamine-sensitive adenylate cyclase by kainic acid". *Brain Res.* 130:374-382.
- DINAN T.G. Y ASTON-JONES G. (1984). "Acute haloperidol increases impulse activity of brain noradrenergic neurons". *Brain Res.* 307: 359-362.

- DINAN T.G. Y ASTON-JONES G. (1985). "Chronic haloperidol inactivates brain noradrenergic neurons". Brain Res. 325: 385-388.
- DIVAC I.; BJÖRKLUND A.; LINDVALL O. Y PASSINGHAM R.E. (1978). "Converging projections from the mediodorsal thalamic nucleus and mesencephalic dopaminergic neurons to the neocortex in three species". J. Comp. Neurol. 180: 59-72.
- DIVAC I.; FOMNUM F. ;STORM-MATHISEN J. (1977). "High affinity uptake of glutamate in terminals of corticostriatal axons ". Nature(London), 266: 377-378.
- DIVAC I.; LINVALL O.; BJÖRKLUND A.; PASSINGHAM R.E. (1975). "Converging projections from the mediodorsal thalamic nucleus and mesencephalic dopaminergic neurons to the neocortex in three species". Exp. Brain Res. 23: 58. (Abstr.).
- DRAY A. (1981). "Serotonin in the basal ganglia: Functions and interactions with other neuronal pathways". J. Physiol. (Paris). 77: 393-403.
- DUNSTAN R. Y JACKSON D.M. (1976). "The demonstration of a change in adrenergic receptor sensitivity in the central nervous system of mice after withdrawal from long-term treatment with haloperidol". Psychopharmacology, 48: 105-114.
- DUNSTAN R. Y JACKSON D.M. (1978). "Further evidence for a change in alpha-adrenergic receptor sensitivity after withdrawal from long-term haloperidol treatment". Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 303: 153-156.
- ECKENSTEIN F. Y SOFRONIEV M.V. (1983). "Identification of central cholinergic neurons containing both choline acetyltransferase and acetylcholinesterase and of central neurons containing only acetylcholinesterase". J. Neuroscience, 3: 2286-2291.
- EDSTRÖM A.; HANSSON H-A. Y NORSTRÖM A. (1973a). "Inhibition of axonal transport in vitro in frog sciatic nerves by chlorpromazine and lidocaine". Z. Zellforsch. 143: 53-69.
- EDSTRÖM A.; HANSSON H.A. Y NORSTRÖM A. (1973b). "The effect of chlorpromazine and tetracaine on the rapid axonal transport of neurosecretory material in the hypothalamo-neurohypophyseal system of the rat". Z. Zellforsch., 143: 71-91.
- ELMAN G.L.; COURTNEY K.D.; ANDRES V. Y FEATHERSTONE P.L.M. (1961). "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity". Biochem. Pharmacol. 7: 88-95.

- EMSON P.C. (1978). "Complementary distribution of dopamine, substance P and acetylcholine in the rat prefrontal cortex and septum". En : Roberts P., Woodruff G.N. (Eds), I.S.N. Dopamine Symposium, pp 397-400. Raven Press. New York.
- EMSON P.C. Y KOOB G.F. (1978). "The origin and distribution of dopamine containing afferents to the rat frontal cortex". Brain Res. 142: 249-267.
- EMSON P.C. Y LINDVALL O. (1979). "Distribution of putative neurotransmitters in the neocortex". Neuroscience, 4: 1-30.
- EMSON P.C.; PAXINOS G.; LE GAL LA SALLE G.; BEN-ARI Y. Y SILVER A. (1979). "Choline acetyltransferase and acetylcholinesterase containing projections from the basal forebrain to the amygdaloid complex of the rat". Brain Res. 165: 271-282.
- ENNA S.J.; BENNETT J.P.; BYLUND D.B.; CREESE I.; BURT D.R.; CHARNESS M.E.; YAMAMURA H.I.; SIMANTOV R. Y SNYDER S. H. (1977). "Neurotransmitter receptor binding: Regional distribution in human brain". J. Neurochem. 28: 233-236.
- ENNA S. J.; BENNETT J. P.; BYLUND D. B.; SNYDER S.H.; BIRD E.D.; IVERSON L.L. (1976). "Alterations of brain neurotransmitter binding in Huntington's chorea". Brain Res. 116: 531-537.
- ENNA S.J.; Y SNYDER S.H. (1975). "Properties of γ -aminobutyric acid (GABA) receptor binding in rat brain synaptic membrane fractions". Brain Res. 100: 81-97.
- ERANKO L. (1973). "Effect of pH on the activity of neurons cholinesterases of the rats towards different biochemical and histochemical substrates and inhibitors". Histochemie, 33: 1-14.
- FADDA F.; ARGIOLOS A.; MELIS M.R.; TISSARI A.; ONALI P. Y GESSA G.L. (1978). "Stress-induced increase in 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) levels in the cerebral cortex and in nucleus accumbens: Reversal by diazepam". Life Sci. 23: 2219-2224.
- FAEDER I.R.; MATTHEWS J.A. Y SALPETE M.M. (1974). "³H-glutamate uptake at insect neuromuscular junctions: Effect of chlorpromazine". Brain Res. 80: 53-70.
- FAGE D.; GUERIN B.; FEUERSTEIN C.; DEMENGE P. Y SCATTON B. (1984). "Time course of the changes in striatal acetylcholine levels induced by pergolide and haloperidol after lesion of the nigrostriatal dopaminergic pathways in the rat". Brain Res. 310: 379-383.

- FALLON J.H. Y MOORE R.Y. (1978a). "Catecholamine innervation of the basal fore-brain. III. Olfactory bulb, anterior olfactory nuclei, olfactory tubercle and piriform cortex". J. Comp. Neurol. 180: 533-544.
- FALLON J.H. Y MOORE R.Y. (1978b). "Catecholamine innervation of the basal fore-brain and neostriatum". J. Comp. Neurol. 180: 545-580.
- FEKETE M.I.K.; HERMAN J.P.; KANYICSKA B. Y PALKOVITS M. (1979). "Dopamine, nor-adrenaline and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) levels of individual brain nuclei: Effects of haloperidol and pargyline." J. Neural. Transmission, 45: 207-218.
- FINE M.I.; MASSERANO J.M. Y WEINER N. (1986). "The effects of reserpine and haloperidol on tyrosine hydroxylase activity in the brain of aged rats". Life Sci. 39: 235-242.
- FLETCHER A.; JAMES T.A.; KILPATRICK I.C.; MACLEOD N.K.; Y STARR M.S. (1979). "Neurochemical and electrophysiological evidence for GABAergic and glutamatergic nigro-thalamic neurones". Neurosci. Lett. Suppl. 3:222.
- FONNUM F. (1978). "Amino acids as chemical transmitters " PP 747. Plenum press. New York/ London.
- FONNUM F.; GOTTESFELD Z. Y GROFOVÁ I. (1978a) ." Distribution of glutamate decarboxylase, choline acetyltransferase and aromatic amino acid decarboxylase in the basal ganglia of normal and operated rats. Evidence for striatopallidal, striato-entopeduncular and striatonigral GABAergic fibres". Brain Res. 143: 125-138.
- FONNUM F.; GROFOVÁ I. Y RINVIK E. (1978b). " Origin and distribution of glutamate decarboxylase in the nucleus subthalamicus of the cat". Brain. Res. 153: 370-374.
- FONNUM F.; GROFOVÁ I.; RINVIK E.; STORM-MATHISEN J.; WALBERG F. (1974). "Origin and distribution of glutamate decarboxylase in substantia nigra of the cat". Brain Res. 71: 77-92.
- FONNUM F.; SØREIDE A.; KVALE I.; WALKER J.; WALAAS I. (1981). "Glutamate in cortical fibers" En: Di Chiara G., Gessa G.L. (Eds). Glutamate as a neurotransmitter pp 29-41. Raven Press. New York.

- FONNUM F.; STORM-MATHISEN J. (1978). "Localization of GABAergic neurons in the CNS". En: Iversen LL, Iversen S.D., Snyder S. (Eds). Handbook of Psychopharmacology 9: 357-401. Plenum Press. New York/London.
- FONNUM F. Y WALBERG F. (1973). "An estimation of the concentration of γ -aminobutyric acid and glutamate decarboxylase in the inhibitory Purkinje axon terminals of the cat". Brain Res. 54: 115-127.
- FREDHOLM B.D. (1977). "Decreased adenosine cyclic 3',5'-monophosphate phosphodiesterase activity in rat striatum following chronic haloperidol treatment". Medical Biol. 55: 61-65.
- FREEDMAN R. Y HOFFER B.J. (1975). "Phenothiazine antagonism of the noradrenergic inhibition of cerebellar Purkinje cells". J. Neurobiol. 6: 277-288.
- FREEDMAN R.; HOFFER B.J.; WOODWARD D.J. Y PURO D. (1977). "Interactions of norepinephrine with cerebellar activity evoked by mossy and climbing fibers". Exp. Neurol. 55: 269-288.
- FUXE K.; AGNATI L.; TSUCHIYA K.; HÖKFELT T.; JOHANSON O.; JONSSON G.; LIDBRINK P.; LÖFSTRÖM A. Y UNGERSTED U. (1975). "Effects of antipsychotic drugs on central catecholamine neurons of rat brain". Antipsychotic drugs, Pharmacodynamics and pharmacokinetics. Pergamon Press. Oxford, 117-132.
- FUXE K. Y JONSSON G. (1974). "Further mapping of central 5-hydroxytryptamine neurons: Studies with the neurotoxic dihydroxytryptamines". Adv. Biochem. Psychopharmacol. 10: 1-12.
- GALE K.; GUIDOTTI A. Y COSTA E. (1977). "Dopaminergic sensitive adenylate cyclase: Location in substantia nigra". Science 195: 503-505.
- GALLAGER D.W.; PERT A. Y BUNNEY W.E Jr. (1978). "Haloperidol-induced presynaptic dopamine supersensitivity is blocked by chronic lithium". Nature, 273: 30-31.
- GERFEN C.R.; STAINES W.A.; ARBUTHNOTT G.W.; FIBIGER H.C. (1982). "Crossed connections of the substantia nigra in the rat". J. Comp. Neurol. 207: 283-303.
- GERLACH J. Y SIMMELSGAARD H. (1978). "Tardive Dyskinesia during and following treatment with haloperidol, haloperidol+biperiden, thioridazine and clozapine". Psychopharmacology, 59: 105-112.

- GEY K.F. Y PLETSCHER A. (1968). "Acceleration of turnover of ^{14}C -catecholamines in rat brain by chlorpromazine". *Experientia*, 24: 335-336.
- GIANUTSOS G.; DRAWBAUGH R.B.; HYNES M.D. Y LAL H. (1974). "Behavioral evidence for dopaminergic supersensitivity after chronic haloperidol". *Life Sci.* 14: 887-898.
- GIANUTSOS G. Y LAL H. (1976). "Alteration in the action of cholinergic and anticholinergic drugs after chronic haloperidol: Indirect evidence for cholinergic hyposensitivity". *Life Sci.* 18: 515-520.
- GIANUTSOS G. Y MOORE K.E. (1977). "Dopaminergic supersensitivity in striatum and olfactory tubercle following chronic administration of haloperidol or clozapine". *Life Sci.* 20: 1585-1592.
- GNEGY M.; UZUNOV P. Y COSTA E. (1977). "Participation of an endogenous Ca^{2+} -binding protein activator in the development of drug-induced supersensitivity of striatal dopamine receptors". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 202: 558-564.
- GODUKHIN O.V.; ZHARIKOVA A.D. Y NOVOSELOV VI (1980). "The release of labeled L-glutamic acid from rat neostriatum in vivo following stimulation of frontal cortex". *Neuroscience*, 5: 2151-2154.
- GOERTZ B.; EMMERICH B. Y KERSTEN W. (1972). "Effect of chlorpromazine on cell-free synthesizing systems of rat brain, rat liver and *E. Coli*, Hoppe-Seyler's". *Z. Physiol. Chem.* 353: 793-802.
- GOLDBERG M.E.; DUBNICK M.; HEFNER Y SALAMA A.I. (1973). "Influence of chlorpromazine on brain serotonin turnover and body temperature in isolated aggressive mice". *Neuropharm.* 12: 249-260.
- GOTTESFELD Z. Y JACOBOWITZ D.M. (1979). "Cholinergic projections from the septal-diagonal band area to the habenular nuclei". *Brain Res.* 176: 391-394.
- GREENGARD P. (1979). "Cyclic nucleotides, phosphorylated proteins, and the nervous system". *Fed. Proc.* 38: 2208-2217.
- GROFOVÁ I. (1975). "The identification of striatal and pallidal neurons projecting to substantia nigra. An experimental study by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase". *Brain Res.* 91: 286-291.

- HALÁSZ N. Y SHEPHERD G.M. (1983). "Neurochemistry of the vertebrate olfactory bulb". *Neuroscience*, 10: 579-619.
- HANNAH R.S.; ROTH S.H. Y SPIRA A.W. (1982). "The effects of chlorpromazine and phenobarbital on vasculogenesis in the cerebellar cortex". *Acta Neuropathol.* 57: 306-308.
- HARVEY J.A.; SCHOLFIELD C.N.; GRAHAM L.J. Jr. Y APRISON M.H. (1975). "Putative transmitters in denervated olfactory cortex". *J. Neurochem.* 24: 445-449.
- HASLAM R.J. Y KREBS H.A. (1963). "The metabolism of glutamate in homogenates and slices of brain cortex". *Biochem. J.* 88: 566-590.
- HATTORI T.; FIBIGER H.C. Y MC GEER P.L. (1975). "Demonstration of a pallido-nigral projection innervating dopaminergic neurons". *J. Comp. Neurol.* 162: 487-504.
- HATTORI T.; MC GEER P.L.; FIBIGER H.C. Y MC GEER E.G. (1973). "On the source of GABA-containing terminals in the substantia nigra. Electron microscopic, autoradiographic and biochemical studies". *Brain Res.* 54: 103-114.
- HAUBRICH D.R.; WANG P.F.L.; HERMAN R.L. Y CLODY D.E. (1975). "Acetylcholine synthesis in rat brain: Dissimilar effects of clozapine and chlorpromazine". *Life Sci.* 17: 739-748.
- HEIMER L. Y DE OLMOS J. (1980). "Double and triple labeling of raphe neurons following injections of fluorescent substances into three separate limbic fore-brain structures". *Soc. Neurosci. Abstr.* 6: 113.
- HENDRICKSON A.E.; HUNT S.P. Y WU J.Y. (1981). "Immunocytochemical localization of glutamic acid decarboxylase in monkey striate cortex". *Nature*, (London), 292: 605-607.
- HENDRICKSON A.E.; OGREN M.P.; VAUGHN J.E.; BARBER R.P. Y WU J.Y. (1983). "Light and electron microscopic immunocytochemical localization of glutamic acid decarboxylase in monkey geniculate complex: Evidence for GABAergic neurons and synapses". *J. Neurosci.* 3: 1245-1262.
- HENDRY S.H.C. Y JONES E.G. (1981). "Sizes and distribution of intrinsic neurons incorporating tritiated GABA in monkey sensory-motor cortex". *J. Neurosci.* 1: 390-408.

- HERKENHAM M. Y NAUTA W.J.H. (1979). "Efferent connections of the habenular nuclei in the rat". J. Comp. Neurol. 187: 19-48.
- HERVE D.; TASSIN J.P.; BARTHELEMY C.; BLANC G.; LAVIELLE S. Y GLOWINSKI J. (1979). "Difference in the reactivity of the mesocortical dopaminergic neurons to stress in the BALB/c and C57BL/6 mice". Life Sci. 25: 1659-1664.
- HILEY C.R. Y BURGEN A.S.V. (1974). "The distribution of muscarinic receptor sites in the nervous system of the dog". J. Neurochem. 22:159-162.
- HJORTH-SIMONSEN A. (1971). "Hippocampal efferents to the ipsilateral entorhinal area. An experimental study in the rat". J Comp. Neurol. 142: 417-438.
- HJORTH-SIMONSEN A. (1973). "Some intrinsic connections of the hippocampus in the rat: An experimental analysis". J. Comp. Neurol. 147: 145-162.
- HOFFMAN I.S. Y CUBEDDU L.X. (1982). "Rate and duration of stimulation determine persynaptic effects of haloperidol on dopaminergic neurons". J. Neurochem. 39: 585-588.
- HÖKFELT T.; EVERITT B.J.; NORHEIM E. ; ROSELL S. Y GOLDSTEIN M. (1983). "Neurotensin-like immunoreactivity in dopamine neurons in the arcuate nucleus and the ventral mesencephalon". 5th. CA. Symposium. Suppl. to "Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry". Oxford, New York, Frankfurt; Pergamon Press. pp 171.
- HÖKFELT T.; REHFELD J.F.; SKIRBOLL L.; IVERMAK B.; GOLDSTEIN M. Y MARKEY K. (1980a). "Evidence for coexistence of dopamine and CCK in meso-limbic neurones". Nature, 285: 476-478.
- HÖKFELT T.; SKIRBOLL L.; REHFELD J.F.; GOLDSTEIN M.; MARKEY K. Y DANN O. (1980b). "A subpopulation of mesencephalic dopamine neurons projecting to limbic areas contains a cholecystokinin-like peptide: Evidence from immunochemistry combined with retrograde tracing". Neuroscience, 5: 2093-2124.
- HONMA T. Y FUKUSHIMA H. (1977). "Role of brain norepinephrine in neuroleptic-induced catalepsy in rats". Pharmac. Biochem. Behav. 7: 501-506.
- HOOVER D.B. Y JACOBOWITZ D.M. (1979). "Neurochemical and histochemical studies of the effect of a lesion of the nucleus cuneiformis on the cholinergic innervation of discrete areas of the rat brain". Brain Res. 170: 113-120.

- HOUSER C.R.; CRAWFORD G.D.; BARBER R.P.; SALVATERRA P.M. Y VAUGHN J.E. (1983a).
"Organization and morphological characteristics of cholinergic neurons: An immu
nocytochemical study with a monoclonal antibody to choline acetyltransferase".
Brain Res. 266: 97-119.
- HOUSER C.R.; HENDRY S.H.C.; JONES E.G. Y VAUGHN J.E. (1983b). "Morphological di-
versity of immunocytochemically identified GABA neurons in the monkey sensory-
motor cortex". J. Neurocytol. 12: 617-638.
- HOUSER C.R.; VAUGHN J.E.; BARBER R.P. Y ROBERTS E. (1980). "GABA neurons are the
major cell type of the nucleus reticularis thalami". Brain Res. 200: 341-354.
- HUANG J.H.; CHENG Z.X. Y WANG G.L. (1986). "Effect of anisadine with chlorproma-
zine on content of acetylcholine in some brain areas". Acta Pharmacol. Sinica,
7: 4.
- HUANG M. Y DALY J.W. (1974). "Interrelations among the levels of ATP, adenosine
and cyclic AMP in incubated slices of guinea pig cerebral cortex: Effect of de-
polarizing agents, psychotropic drugs and metabolic inhibitors". J. Neurochem.
23: 393-404.
- HUNT S.P. Y SCHMIDT J. (1978). "Some observations on the binding patterns of -
 α -bungarotoxin in the central nervous system of the rat". Brain Res. 157: 213-
232.
- ISHII K. Y KATO T. (1985). "Increase of dopamine turnover in bilateral striata
after unilateral injection of haloperidol into substantia nigra of unrestrained
rats". Brain Res. 359: 260-266.
- IVERSEN L.L. (1975). "Dopamine receptors in the brain". Science, 188: 1084-1089.
- IWATSUBO K. Y CLOUET D.H. (1975). "Dopamine-sensitive adenylate cyclase of the
caudate nucleus of rats treated with morphine or haloperidol". Biochem. Phar-
macol. 24: 1499-1503.
- JACKSON D.M.; DUNSTAN R. Y PERRINGTON A. (1979). "The hyperkinetic syndrome fo-
llowing long-term haloperidol treatment: Involvement of dopamine and noradrena-
line". J. Neural. Transmission, 44: 175-186.
- JACKSON R.L. Y APRISON M.H. (1966). "Mammalian brain acetylcholinesterase. Puri-
fication and properties". J. Neurochem. 13: 1351-1356.

- JACOBS B.L.; FOOTE S.L. Y BLOOM F.E. (1978). "Differential projections of neurons within the dorsal raphe nucleus of the rat: A horseradish peroxidase (HRP) study". Brain Res. 147: 149-153.
- JAKOUBEK B.; HAJEK I. Y BURESOVA M. (1980). "Different effects of chlorpromazine on the synthesis of proteins in cell-free systems of rat cortex, hippocampus, medulla and cerebellum". Brain Res. 182: 242-245.
- JANSSEN P.A.J. (1967). "The pharmacology of haloperidol". Int. J. Neuropsychiat. 3: (Suppl. 1) s10-s18.
- JHONSON J.L. (1978). "The excitant amino acids glutamic and aspartic acid as transmitter candidates in the vertebrate central nervous system". Prog. Neurobiol. 10: 155-202.
- JOHNSTON G.A.R. (1978). En: Receptors in Pharmacology, edited by Smythies J.R. and Bradley R.J. pp 295-333. Marcel Dekker, New York.
- JONES E.G.; BURTON H.; SAPER C.B. Y SWANSON L.W. (1976). "Midbrain, diencephalic and cortical relationships of the basal nucleus of Meynert and associated structures in primates". J. Comp. Neurol. 167: 385-420.
- KAMATA K.; SUGIMOTO A. Y KAMEYAMA T. (1986). "Effect of chronic haloperidol on dopamine release following microinjection of GABA into the substantia nigra zona reticulata in the rat". Brain Res. 1: 1-6.
- KANAZAWA I.; MARSHALL G.R. Y KELLY J.S. (1976). "Afferents to the rat substantia nigra studied with horseradish peroxidase with special reference to fibers from the subthalamic nucleus". Brain Res. 115: 485-491.
- KANAZAWA I.; MIYATA Y.; TOYOKURA Y. Y OTSUKA M. (1973). "The distribution of γ -aminobutyric acid (GABA) in the human substantia nigra". Brain Res. 51: 363-365.
- KANENO S.; WATANABE S.; TORU M. Y SHIMAZONO Y (1978). "Different dopamine stimulation of adenylate cyclase in striatum and mesolimbic area of rats treated with chronic chlorpromazine". Brain Res. 152: 396-400.
- KARMEN . Citado por: PETRONIO L.; AULISA B.; PALAMARA F. Y GIRALDI S. (1960). En: "Sul comportamento di alcune attività enzimatiche nei tessuti (GOT, GPT, Aldolasi, Idrogenasi lattica e deidrogenasi malica). I. Neoplasie Mammarie". Arch. Vecchi. Anat. Pathol. Med. Clin. XXXIV: 1-20.

- KASHIBA A.; HASHIMOTO H. Y KIMURA H (1983). "Electron microscopic alterations in noradrenaline nerve terminals in vas deferens of the rat following chronic administration of reserpine and chlorpromazine". Acta Histochem. Cytochem. 16: 207-215.
- KATOTA K.; BAK I.J.; HASSLER R.; KIM J.S. Y WAGNER A. (1974). "L-glutamate decarboxylase and choline acetyltransferase activity in the substantia nigra and the striatum after surgical interruption of the strio-nigral fibres of the baboon". Exp. Brain Res. 19: 217-227.
- KEBABIAN J.W. Y CALNE D.B. (1979). "Multiple receptors for dopamine". Nature, - (London), 277: 93-96.
- KELLY M.J. (1981). "An analysis of the effects of apomorphine and haloperidol on the release of (³H)-dopamine and (³H)-noradrenaline from rabbit-brain slices". Arch. Int. Pharmacodyn. 250: 18-29.
- KELLY P.H. Y MOORE K.E. (1976). "Mesolimbic dopaminergic neurones in the rotational model of nigrostriatal function". Nature, 263: 695-696.
- KELLY P.H. Y MOORE K.E. (1978). "Decrease of neocortical choline acetyltransferase after lesion of the globus pallidus in the rat". Exp. Neurol. 61: 479-484.
- KERKERIAN L.; NIEOULLON A. Y DUSTICIER N. (1983). "Topographic changes in high-affinity glutamate uptake in the cat red nucleus, substantia nigra, thalamus and caudate nucleus after lesions of sensory motor cortical slices". Exp. Neurol. 81: 598-612.
- KILPATRICK I.C.; STARR M.S.; FLETCHER A.; JAMES T.A. Y MAC LEOD N.K. (1980). "Evidence for a GABAergic nigrothalamic pathway in the rat". Exp. Brain Res. 40: 45-54.
- KIM J.S.; BAK I.J.; HASSLER R.; OKADA Y. (1971). "Role of γ -aminobutyric acid (GABA) in the extrapyramidal motor system. 2. Some evidence for the existence of a type of GABA-rich strio-nigral neurons". Exp. Brain Res. 14: 95-104.
- KIM J.S. Y HASSLER R. (1975). "Effects of acute haloperidol on the gamma-aminobutyric acid system in rat striatum and substantia nigra". Brain Res. 88: 150-153.

- KIMURA H.; MC GEER P.L.; PENG J.H. Y MC GEER E.G. (1980). "Choline acetyltransferase-containing neurons in rodent brain demonstrated by immunohistochemistry". Science, 208: 1057-1059.
- KING T.E. (1967). "Preparation of succinate dehydrogenase and reconstruction of succinate oxidase". En: Methods in enzymology, vol. X. Collowick S.P. y Kaplan N.O. (Eds). Academic Press. New York. pp 322-331.
- KIRKPATRIK W.E. Y LOMAX P. (1971). "Temperature changes induced by chlorpromazine and N-methylchlorpromazine in the rat". Neuropharmacol. 10: 61-66.
- KOBAYASHI R.M.; BROWNSTEIN M.; SAAVEDRA J.M. Y PALKOVITS M. (1975). "Choline acetyltransferase content in discrete regions of the rat brain stem". J. Neurochem. 24: 637-640.
- KÖHLER C. Y STEINBUSCH H. (1982). "Identification of serotonin and nonserotonin-containing neurons of the mid-brain raphe projecting to the entorhinal area and the hippocampal formation. A combined immunohistochemical and fluorescent retrograde tracing study in the rat brain". Neuroscience, 7: 951-975.
- KONDO Y. E IWATSUBO K. (1980). " Diminished responses of nigral dopaminergic neurons to haloperidol and morphine following lesions in the striatum". Brain Res. 181: 237-240.
- KORF J.; ZIELEMAN M.Y WESTERINK B.H.C. (1976). "Dopamine release in substantia ni gra?". Nature, 260: 257-258.
- KRAJL M. (1965). "A rapid microfluorimetric determination of monoamine oxidase". Biochem. Pharmacol. 14: 1683-1685.
- KRETTEK J.E.; PRICE S.L. (1977). "Cortical projections of the medio-dorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat". J. Comp. Neurol. 171: 157-192.
- KUCHAR M.J.; DE HAVEN R.N.; YAMAMURA H.I.; ROMMELSPACHER H. Y SIMON J.R. (1975). "Further evidence for cholinergic habenulo-interpeduncular neurons: Pharmacologic and function characteristics". Brain Res. 97: 265-275.
- KUCHAR M.J. Y YAMAMURA H.I. (1975). "Light autoradiographic localization of cholinergic muscarinic receptor in rat brain by specific binding of a potent antagonist". Nature, (London), 253: 560-561.

- KUHAR M.J. Y YAMAMURA H.I. (1976). "Localization of cholinergic muscarinic receptors in rat brain by light microscopic radioautoradiography". Brain Res. 110: 229-243.
- KWANT W.O. Y SEEMAN P. (1969). "The membrane concentration of a local anesthetic (chlorpromazine)". Biochim. Biophys. Acta, 183: 530-543.
- LADURON P.; DE KIE K. Y LEYSEN J. (1977). "Specific effect of haloperidol on dopamine turnover in the frontal cortex". Naunyn-Schmiedeb Arch. Pharmacol. 296: 183-185.
- LAHTI R.A. Y LOSEY E.G. (1974). "Antagonism of the effects of chlorpromazine and morphine on dopamine metabolism by GABA". Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 7: 31-39.
- LANDS A.M.; ARNOLD A.; MC AULIFF J.P.; LUDUENA F.P. Y BROWN T.G. (1967). "Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines". Nature, (London), 214: 597-598.
- LANGER S.Z. (1974). "Presynaptic regulation of catecholamine release". Biochem. Pharmacol. 23: 1793-1800.
- LAU Y. (1984). "Increase of calmodulin-stimulated striatal particulate phosphorylation response in chronic haloperidol-treated rats". Brain Res. 307: 181-189.
- LAU Y. Y GNEGY M.E. (1982). "Chronic haloperidol treatment increased calcium-dependent phosphorylation in rat striatum". Life Sci. 30: 21-28.
- LE FUR G.; GUILLOUX F. Y UZAN A. (1980). "In vivo blockade of dopaminergic receptors from different rat brain regions by classical and atypical neuroleptics". Biochem. Pharmacol. 29: 267-270.
- LEHMAN J.; NAGY J.I.; ATMADJA S. Y FIBIGER H.C. (1980). "The nucleus basalis magnocellularis: The origin of a cholinergic projection to the neocortex of the rat". Neuroscience, 5: 1161-1174.
- LE MOAL M.; GALEY D. Y CARDO B. (1975). "Behavioural effects of local injection of 6-OHDA in the medial ventral tegmentum in the rat. Possible role of the mesolimbic dopaminergic system". Brain Res. 88: 190-194.

- LEONARD C.M. (1969). "The prefrontal cortex of the rat. I. Cortical projection of the medio dorsal nucleus. II. Efferent connections". Brain Res. 12: 321-334.
- LEONARD C.M. (1972). "The connections of the dorso-medial nuclei". Brain Behav. Evol. 6: 524-541.
- LERNER P.; NOSE P.; GORDON E.K. Y LOVENBERG W. (1977). "Haloperidol: Effect of long-term treatment on rat striatal dopamine synthesis and turnover". Science, 197: 181-183.
- LEWIS M.S.; MOLLIVER M.E.; MORRISON J.H. Y LIDOV H.G.W. (1979). "Complementarity of dopaminergic and noradrenergic innervation in anterior cingulate cortex of the rat". Brain Res. 164: 328-333.
- LEWIS P.R.; SHUTE C.C.D. Y SILVER A. (1967). "Confirmation from choline acetylase analyses of a massive cholinergic innervation to the rat hippocampus". J. Physiol. (London), 191: 215-224.
- LINDVALL O. Y BJÖRKLUND A. (1974). "The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method". Acta Physiol. Scand. Suppl. 412: 1-48.
- LINDVALL O. Y BJÖRKLUND A. (1978). "Organization of catecholamine neurons in the rat central nervous system". In Iversen L.L., Iversen L.D., Snyder S.H. (Eds): "Handbook of Psychopharmacology". New York, Plenum Press, 9: 139-231.
- LINDVALL O.; BJÖRKLUND A. Y DIVAC Y. (1978). "Organization of catecholamine neurons projecting to the frontal cortex in the rat". Brain Res. 142: 1-24.
- LINDVALL O.; BJÖRKLUND A.; MOORE R.Y. Y STENEVI U. (1974). "Mesencephalic dopamine neurons projecting to neocortex". Brain Res. 81: 325-331.
- LONDON E.D. Y COYLE J.T. (1979). "Specific binding of (³H)-Kainic acid to receptor sites in rat brain". Mol. Pharmacol. 15: 492-505.
- LORENS S.A. Y GULDBERG H.C. (1974). "Regional 5-hydroxytryptamine following selective midbrain raphe lesions in the rat". Brain Res. 78: 45-56.
- LOUGHLIN S.E.; FOOTE S.L. Y FALLON J.H. (1982). "Locus coeruleus projections to cortex: Topography, morphology and collaterization". Brain Res. Bull. 9: 287-294.

- LOWRY O.H.; ROSEBROUGH N.J.; FARR A.L. Y RANDALL R.J. (1951). "Protein mesurent with the folin phenol reagent". J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- LYNCH G; ROSE G. Y GALL C. (1978). "Anatomical and functional aspects of the sep to-hippocampal projections". En: Elliot K., Whelan J. (Eds); Functions of the Septo -Hippocampal System, pp5-24. Elsevier. Amsterdam.
- MAGGI A.; CATTBENI F.; BRUNO F Y RACAGNI G. (1977). "Haloperidol and clozapine: Specificity of action of GABA in the nigro-striatal system". Brain Res. 133: 382-385.
- MALTHE-SØRENSEN D.; SKREDE K.K. Y FONNUM F. (1980). "Release of D-(³H)-aspartate from the dorsolateral septum after electrical stimulation of the fimbria in vitro". Neuroscience, 5:127-133.
- MAO C.C.; CHENEY D.L.; MARCO E.; REVUELTA A. Y COSTA E. (1977). "Turnover times of gamma-aminobutyric acid and acetylcholine in nucleus caudatus, nucleus accumbens, globus pallidus and substantia nigra: Effects of repeated administration of haloperidol". Brain Res. 132: 375-379.
- MAO C.C.; GUIDOTTI A. Y COSTA E. (1974). "The regulation of cyclic guanosine monophosphate in rat cerebellum: Possible involvement of putative amino acid neurotransmitters". Brain Res. 79: 510-514.
- MARCO E.; MAO C.C.; CHENEY D.L.; REVUELTA A. Y COSTA E. (1976). "The effects of antipsychotics on the turnover rate of GABA and acetylcholine in rat brain nuclei". Nature, 264: 363-365.
- MARCHAND C.M.F.; HUNT S.P. Y SCHMIDT J. (1979). "Putative acetylcholine receptors in hippocampus and corpus striatum of rat and mouse". Brain Res. 160: 363-367.
- MASON S.T. Y FIBIGER H.C. (1979). "Regional topography within noradrenergic locus coeruleus as revealed by retrograde transport of horseradish peroxidase". J. Comp. Neurol. 187: 703-724.
- MATSUMOTO T.; UCHIMURA H.; HIRANO M.; KIMM J.S.; YOKOO H.; SHIMOMURA T.; NAKAHARA T.; INONE K.; OOMAGARI K. (1983). "Differential effects of acute and chronic administration of haloperidol on homovanillic acid levels in discrete dopaminergics areas of rat brain". Eur. J. Pharmacol. 89: 27-33.

- MC BRIDE W.J.; FREDERICKSON R.C.A.; (1980) ." Taurine as a possible transmitter in the cerebellum ". Fed. Proc. 39: 2701-2705.
- MC BRIDE W.J.; REA M.A. Y NADI N. S. (1978)." Effects of 3- acetylpyridine on the levels of several amino acids in different CNS regions of the rat". Neurochem. Res. 3: 793-801.
- McCULLOCH J.; SAVAKI H. Y SOKOLOFF L. (1982)." Distribution of effects of haloperidol on energy metabolism in the rat brain". Brain Res. 243: 81-90.
- McGEER P.L.; FIBIGER H.C.; MALER L.; HATTORI T. Y McGEER E.G. (1974)." Evidence for descending pallido-nigral GABA-containing neuron". Adv. Neurol. 5: 153-160.
- McGEER P.L.; McGEER E.G.; SCHERER U. Y SINGH K.(1977)." A glutamatergic corticostriatal path? ". Brain Res. 128: 369-373.
- McGEER P.L.; McGEER E.G.; WADA J.A. Y JUNG E.(1971)."Effects of globus pallidus lesions and Parkinson's disease on brain glutamic acid decarboxylase". Brain Res. 32: 425-431.
- MEDINA N.; DMYTRARENKO A. Y BACILE M.(1964)." The effects of certain phenothiazines on the structure and metabolic activity of sarcosomes of guinea pig heart". Biochen. Pharmac. 13 : 461-467.
- MEIBACH R.C. Y SIEGEL A.(1977)." Efferent connections of the hippocampal formation in the rat ". Brain Res. 124: 197-224.
- MEYLER E.; FRIEHOFF A.J. Y FRIEDMAN E.(1980)."Differential effects of acute and chronic haloperidol treatment on striatal and nigral 3,4-dihydroxyphenylacetic acid(DOPAC) levels ." Life Sci. 26: 541-547.
- MESULAM M.M.; VAN HOESEN G.W.(1976)." Acetylcholinesterase-rich projections from the basal forebrain of the rhesus monkey to neocortex". Brain Res. 52: 19-36.
- MESULAM M.M.; VAN HOESEN G.W. Y ROSENE D. L.(1977)." Substantia innominata, septal area and nuclei of the diagonal band in the rhesus monkey: organization of efferents and their acetylcholinesterase histochemistry". Soc. Neurosci. Abstr. 3: 202.

- MEYERS R.D.(1975)." Impairment of thermoregulation, food and water intakes in the rat after hypothalamic injections of 5,6-dihydroxytryptamine". Brain Res. 94: 491-506.
- MICHALEK H.; GARRI G.L. Y POCCHIARI R.(1980)." Effects of triperidol on carbohydrate and aminoacid metabolism in rat brain-cortex slices". Biochem. J. 110: 237-241.
- MIKUNI M. Y MELTZER H. Y.(1983)." Reduction of serotonin-2receptors in rat cerebral cortex after subchronic administration of imipramine, chlorpromazine, and the combination thereof". Life Sci. 34: 87-92.
- MILLER J.C. Y FRIEDHOFF A. J.(1979) ." Dopamine receptor-coupled modulation of the K⁺- depolarized overflow of ³H -acetylcholine from rat striatal slices: Alteration after chronic haloperidol and alpha-methyl-p-tyrosine pretreatment". Life Sci. 25: 1249-1256.
- MITCHELL P.R. Y DOGGETT N.S.(1980)." Modulation of striatal (³H)-glutamic acid release by dopaminergic drugs". Life Sci. 26: 2073-2081.
- MITHANI S. ; MARTIN- IVERSON M.T.; PHILLIPS A.G. Y FIBIGER H.C.(1986)." The effects of haloperidol on amphetamine- and methylphenidate-induced place preferences and locomotor activity". Psychopharmacol. 90: 247-252.
- MOORE R. Y. Y BLOOM F. E.(1979)." Central catecholamine neurons systems: Anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems." Annu. Rev. Neurosci. 2: 113-168.
- MOORE R.Y. ; HALARIS A. E. Y JONES B.E.(1978)." Serotonin neurons of the mid-brain raphe: Ascending projections". J.Comp. Neurol. 180: 417-438.
- MULLER P. Y SEEMAN P.(1977)." Brain neurotransmitter receptors after long-term haloperidol: dopamine, acetylcholine, serotonin, α -noradrenergic and naloxone receptors". Life Sci. 21: 1751-1758.
- NADI N.S.; KANTER D.; McBRIDE W.J. Y APRISON M.H.(1977)." Effects of 3-acetylpyridine on several putative neurotransmitter aminoacids in the cerebellum and medulla of the rat". J. Neurochem 28: 661-662.

- NAGAI T.; KIMURA H.; MAEDA T.; McGEER P.L.; PENG F. Y McGEER E.G.(1982)." Cholinergic projections from the basal forebrain of the rat to the amygdala". J. Neurosci. 2: 513-520.
- NAGAI T.; SATOH K.; IMAMOTO K. Y MAEDA T.(1981)." Divergent projections of catecholamine neurons of the locus coeruleus as revealed by fluorescent retrograde double labeling technique". Neurosci. Lett. 23: 117-123.
- NAGY J.L.; CARTER D.A. Y FIBIGER H.C.(1978) ." Anterior striatal projections to the globus pallidus , entopeduncular nucleus and substantia nigra in the rat: The GABA connection". Brain Res. 158: 15-29.
- NAUTA H.J.W. Y CUENOD M. (1982)." Perikarion cell labeling in the subthalamic nucleus following the injection of ³H- γ -aminobutyric acid into the pallidal complex: an autoradiographic study in cat". Neuroscience, 7: 2725-2734.
- NEIDLE A.; VAN DER BERG C.J. Y GRYNBAUM A.(1969)." Heterogeneity of rat brain mitochondria isolated in continuous sucrose gradients". J. Neurochem . 16: 225-234.
- NIEOULLON A. Y DUSTICIER N. (1981)." Decrease in choline acetyl transferase and in high affinity glutamate uptake in the red nucleus of the cat after cerebellar lesions". Neurosci. Lett. 24: 267-271
- NIEOULLON A.; KERKERIAN L. Y DUSTICIER N.(1982)." Inhibitory effects of dopamine on high affinity glutamate uptake from rat striatum". Life Sci. 30: 1165-1172.
- NITSCH C.; KIM J.K.; SHIMADA C. Y OKADA Y.(1979)." Effect of hippocampus extirpation in the rat on glutamate levels in target structures of hippocampal efferents". Neurosci. Lett. 11: 295-299.
- NYBÄCK H.; SEDVALL G. (1970)." Further studies on the accumulation and disappearance of catecholamines formed from tyrosine - ¹⁴C mouse brain. Effect of some phenothiazine analogues". Europ. J. Pharmacol. 10: 193-205.
- OHARA P.T.; LIEBERMAN A.R.; HUNT S. P. Y WU J-Y (1983)." Neural elements containing glutamic acid decarboxylase (GAD) in the dorsal lateral geniculate nucleus of the rat: Immunohistochemical studies by light and electron microscopy". Neuroscience, 8: 189-211.

- OKAMOTO K.; KIMURA H.; SAKAI Y. (1983). "Evidence for taurine as an inhibitory neurotransmitter in cerebellar estellate interneurons: selective antagonism by TAG (6-aminomethyl-3-methyl-4H, 1, 2, 4-benzothiadiazine-1, 1-dioxide)". Brain Res. 265: 163-168.
- OLSON L. Y FUXE K. (1971). "On the projections from the locus coeruleus noradrenaline neurons: The cerebellar innervation". Brain Res. 28: 165-171.
- OWEN F.; CROSS A.J.; WADDINGTON J.L.; POULTER M.; GAMBLE S.J. Y CROW T.J. (1980). "Dopamine-mediated behaviour and ³H-spiperone binding to striatal membranes in rats after nine months haloperidol administration". Life Sci. 26: 55-59.
- PALACIOS J.M.; YOUNG W.S. Y KUCHAR M.J. (1980). "Autoradiographic localization of γ -aminobutyric acid (GABA) receptors in the rat cerebellum". Proc. Natn. Acad. Sci. USA. 77: 670-674.
- PALKOVITS M.; BROWNSTEIN M.; SAAVEDRA J.M. (1974). "Serotonin content of the brain stem nuclei in the rat". Brain Res. 80: 237-249.
- PALKOVITS M. Y JACOBOWITZ D.M. (1974). "Topographic atlas of catecholamine and acetylcholinesterase-containing neurons in the rat brain. II: Hindbrain (mesencephalon, rhombencephalon)". J. Comp. Neurol. 157: 29-42.
- PALKOVITS M.; SAAVEDRA J.M.; JACOBOWITZ D.M.; KIZER J.S.; ZABORSZKY L. Y BROWNSTEIN M.J. (1977). "Serotonergic innervation of the forebrain: Effect of lesions on serotonin and tryptophan hydroxylase levels". Brain Res. 130: 121-134.
- PAZO J.H.; TUMILASCI O.R.; MEDINE J.H. Y DVORKIN M.A. (1984). "Salivary secretion induced by L-DOPA in haloperidol-treated rats". J. Autonomic Nervous System, 11: 173-179.
- PEROUTKA S.J.; U'PRICHARD D.C.; GREENBERG D.A. Y SNYDER S.H. (1977). "Neuroleptic drug interactions with norepinephrine alpha receptor binding sites in the rat". Neuropharmacology, 16: 549-559.
- PERRINGTON A.; EINSTEIN R.; JACKSON D.M. Y CHRISTIE M.J. (1983). "Chronic haloperidol and adrenergic receptor sensitivity in the rat". J. Neuraltransmission 57: 13-25.

- PHILLIPSON O.T. (1979a) ." The cytoarchitecture of the interfascicular nucleus and ventral tegmental area of Tsai in the rat ". J. Comp. Neurol. 187: 85-98.
- PHILLIPSON O. T. (1979b)." A Golgi study of the ventral tegmental areas of Tsai and interfascicular nucleus in the rat". J. Comp. Neurol. 187: 99-116.
- PIJNENBURG A.J.J.; WOODRUFF G.N. Y VAN ROSSUM J.M. (1973)." Ergometrine induced locomotor activity following intracerebral injection into the nucleus accumbens". Brain Res. 59: 289-302.
- PIZZOLATO G. ; SONCRANT T.T. ; HOLLOWAY H.W. Y RAPOPORT S.I. (1985b)." Reduced metabolic response of the aged rat brain to haloperidol". J. Neurosci. 5: 2831-2838.
- PIZZOLATO G.; SONCRANT T.T.; LARSON D.M. Y RAPOPORT S.I. (1985a)." Reduced metabolic response of the rat brain to haloperidol after chronic treatment". Brain Res. 337: 1-9.
- POLLARD H.B.; BARKER J.L.; BOHR W.A. Y DOWDALL M.J. (1975)." Chlorpromazine: Specific inhibition of L-Noradrenaline and 5-hydroxytryptamine uptake in synaptosomes from squid brain". Brain Res. 85: 23-31.
- PREMONT J. ; THIERRY A.M.; TASSIN J.P. ; GLOWINSKI J.; BLANC G. Y BOCKAERT J. (1976)." Is the dopamine sensitive adenylate cyclase in the rat substantia nigra coupled with 'Autoreceptors'? ". FEBS Lett. 68: 99-104.
- PYCOCK C.J.; CARTER C.J. Y KERWIN R.W. (1980)."Effect of 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex on neurotransmitter systems in subcortical sites in the rat". J. Neurochem. 34: 91-99.
- PYCOCK C. Y HORTON R. (1976)."Evidence for an accumbens-pallidal pathway in the rat and its possible GABAergic control". Brain Res. 110: 629-634.
- RAO A.G. Y CANN J.R. (1981)."A comparative study of the interaction of chlorpromazine, trifluoperazine and promethazine with mouse brain tubulin". Mol. Pharmacol. 19: 295-301.
- REA M.A.; McBRIDE W.J.; RHODE B.H. (1980)."Regional and synaptosomal levels of aminoacid neurotransmitters in the 3-acetylpyridine deafferentated rat cerebellum". J. Neurochem. 34: 1106-1108.

- REIJNIERSE G.L.A.; VEDSTRA H. Y VAN DER BERG C.J. (1975). "Subcellular localization of α -aminobutyrate transaminase and glutamate dehydrogenase in adult rat brain". Biochem. J. 152: 469-475.
- REISINE T.D.; FIELDS J. Z. ; YAMAMURA H.I.; BIRD E.D.; SPOKES E.; SCHREINER F.S.; ENNA S.J. (1977). "Neurotransmitter receptors alterations in Parkinson's disease". Life Sci. 21: 335-344.
- REUBI J.C. Y CUENOD M. (1979). "Glutamate release in vitro from cortico-striatal terminals". Brain Res. 176: 185-188.
- REYNOLDS E.S. (1963). "The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy". J. Cell. Biol. 17: 208-212.
- RIBAK C.E. (1978). "Aspinous and sparsely-spinous stellate neurons in the visual cortex of rats contain glutamic acid decarboxylase". J. Neurocytol. 7: 461-478.
- RIBAK C.E.; VAUGHN J.E.; SAITO K. (1978). "Immunocytochemical localization of glutamic acid decarboxylase in neuronal somata following colchicine inhibition of axonal transport". Brain Res. 140: 315-332.
- RINVIK E.; GROFOVA I.; OTTERSEN O.P. (1976). "Demonstration of nigroreticular and nigroreticular projections in the cat by axonal transport of proteins". Brain Res. 112:388-394.
- ROBERTS P.J. Y ANDERSON S.D. (1979). "Stimulatory effect of L-glutamate and related aminoacids on (3 H)-dopamine release from rat striatum: An in vitro model for glutamate actions". J. Neurochem. 32: 1539-1545.
- ROBERTS P.J.; McBEAN G.J.; SHARIF N.A.; THOMAS E.M. (1982). "Striatal glutamatergic function: Modifications following specific lesions". Brain Res. 235: 83-91.
- ROBERTS P.J. Y SHARIF D.A. (1978). "Effects of L-glutamate and related aminoacids upon the release of (3 H)-dopamine from rat striatal slices". Brain Res. 157: 391-395.
- ROGAWSKI M.A.; AGHAJANIAN G.K. (1980). "Activation of lateral geniculate neurons by norepinephrine: mediation by an alpha-adrenergic receptor". Brain Res. 182: 345-359.

- ROOM P.; POSTEMA F. Y KORF J. (1981). "Divergent axon collaterals of rat locus coeruleus neurons: Demonstration by a fluorescent double labeling technique". Brain Res. 221: 219-230.
- ROSE J.E. Y WOOLSEY C.N. (1948). "The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat". Res. Publ. Assoc. Nerv. Ment. Dis. 27: 210-232.
- ROTTER A.; BIRDSALL N. J.M. ; BURGEN A. S.V.; FIELD P.M.; HULME E.C. Y RAISMAN G. (1979a). "Muscarinic receptors in the central nervous system of the rat. I. Technique for autoradiographic localization of the binding of (³H)-propylbenzilylcholine mustard and its distribution in the forebrain". Brain Res. Rev. 1: 141-165.
- ROTTER A.; BIRDSALL N.J.M.; FIELD P.M. Y RAISMAN G. (1979b). "Muscarinic receptors in the central nervous system of the rat. II. Distribution of binding of (³H)-propylbenzilylcholine mustard in the midbrain and hindbrain". Brain Res Rev. 1: 207-224.
- ROTROSEN J.; FRIEDMAN E.; GERSHON S. (1975). "Striatal adenylate cyclase activity following reserpine and chronic chlorpromazine administration in rats". Life Sci. 17: 563-568.
- ROWLANDS R.J. Y ROBERTS P.J. (1980b). "Activation of dopamine receptors inhibits calcium-dependent glutamate release from cortico-striatal terminals in vitro". Eur. J. Pharmacol. 62: 241-242.
- ROWLANDS G.J. Y ROBERTS P.J. (1980a). "Specific calcium-dependent release of endogenous glutamate from rat striatum is reduced by destruction of the cortico-striatal tract". Exp. Brain Res. 39: 239-240.
- SAVEDRA J.M.; BROWNSTEIN M; PALKOVITS M. (1974). "Serotonin content of the limbic system in rat". Brain Res. 79: 437-441.
- SAITO K.; BARBER R.; WU J.Y.; MATSUDA T.; ROBERTS E.; VAUGHN J.E. (1974). "Immunohistochemical localization of glutamate decarboxylase in rat cerebellum". Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 71: 269-273.
- SALLER C.F. Y SALAMA A.I. (1985). "Alterations in dopamine metabolism after chronic administration of haloperidol". Neuropharmacology, 24: 123-129.

- SAYERS A.C.; BÜRKI H.R.; RUCH W. Y ASPER H. (1975). "Neuroleptic-induced hypersensitivity of striatal dopamine receptors in the rat as a model of Tardive Dyskinesias. Effects of clozapine, haloperidol, lexapine and chlorpromazine". Psychopharmacologia, 41: 97-104.
- SCATTON B.; BIREAU A.; GARRET C.; GLOWINSKI J.; JULOU J. (1977a). "Action of palmitic ester of pipotiazine on dopamine metabolism in the nigro-striatal, mesolimbic and meso-cortical systems". Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol. 296: 169-175.
- SCATTON B.; DEDEK J. Y KORF J. (1977b). "Effect of single and repeated administration of haloperidol and sulpiride on striatal and retinal dopamine turnover in the rat". Brain Res. 135: 374-377.
- SCATTON B.; GLOWINSKI J. Y JULOU J. (1976). "Dopamine metabolism in the mesolimbic and mesocortical dopaminergic systems after single or repeated administration of neuroleptics". Brain Res. 109: 184-189.
- SCHELKUNOV E. L. (1967). "Adrenergic effect of chronic administration of neuroleptics". Nature, 214: 1210-1212.
- SCHNELL R. C. (1974). "Enhancement of the chlorpromazine-induced suppression of the conditioned avoidance response by carbonic anhydrase inhibition". Neuropharmacology, 13: 847-850.
- SCHOLFIELD C.N.; MORONI F.; CORRADETTI R. Y PEPEU G. (1983). "Levels and synthesis of glutamate and aspartate in the olfactory cortex following bulbectomy". J. Neurochem. 41: 135-138.
- SEEMAN P. (1981). "Brain dopamine receptors". Pharmacol. Rev. 32: 229-313.
- SEEMAN P. Y LEE T. (1975). "Antipsychotic drugs: direct correlation between clinical potency and presynaptic action on dopamine neurons". Science, 188: 1217-1219.
- SEGAL M. (1978). "The acetylcholine receptor in the rat hippocampus: nicotinic, muscarinic or both?". Neuropharmacology, 17: 619-623.
- SEGAL M.; DUDAR Y. Y AMSTERDAM A. (1978). "Distribution of an α -bungarotoxin-binding cholinergic nicotinic receptor in rat brain". Brain Res. 148: 105-119.

- SHERMISA O.A. Y FAHIEN L.A. (1971). "Modifications of glutamate dehydrogenase by various drugs which affect behavior". *Mol. Pharmacol.* 7: 8-25.
- SHEPHERD G.M. (1979). "The synaptic organization of the brain". 436 pp. Oxford. University Press.
- SHERMAN A.D. Y MOTT J. (1985). "Amphetamine stimulation of glutaminase is blocked by neuroleptics". *Life Sci.* 36: 1163-1167.
- SHERMAN A.D.; MOTT J. Y SHERMAN A.D. (1984). "Potential locus and mechanism of blockade of conditioned avoidance responding by neuroleptics". *Neuropharmacol.* 23: 73-78.
- SHUSTER L. Y HANNAM R.V. (1964). "The indirect inhibition of protein synthesis in vivo by chlorpromazine". *J. Biol. Chem.* 239: 3401-3406.
- SHUTE C.C.D. Y LEWIS P.R. (1967). "The ascending cholinergic reticular system: Neocortical, olfactory and subcortical projections". *Brain Res.* 90: 497-520.
- SIGGINS G.R.; HOFFER B.J.; UNGERSTEDT U. (1974). "Electrophysiological evidence for the involvement of cyclic adenosine monophosphate in dopamine responsive caudate neurons". *Life Sci.* 15: 779.
- SIMON H. (1981). "Neurones dopaminergiques A10 et systeme frontal". *J. Physiol. (Paris)*, 77: 81-95.
- SIMON H.; LE MOAL M. Y CALAS A. (1979). "Efferents and afferents of the ventral tegmental A10 region studied after local injection of ³H-leucine and horseradish peroxidase". *Brain Res.* 178: 17-40.
- SIMON H.; LE MOAL M.; GALEY D. Y CARDO B. (1976a). "Silver impregnation of dopaminergic systems after radiofrequency and 6-OHDA lesions of the rat ventral tegmentum". *Brain Res.* 115: 215-231.
- SIMON J.R.; CONTRERA J.F. Y KUCHAR M.J. (1976b). "Binding of (³H)-kainic acid, an analogue of L-glutamate to brain membranes". *J. Neurochem.* 26: 141-147.
- SKIRBOLL L.R. Y BUNNEY B.S. (1979). "The effects of acute and chronic haloperidol treatment on spontaneously firing neurons in the caudate nucleus of the rat". *Life Sci.* 25: 1419-1434.

- SMITH R.C. Y DAVIS J.M. (1976). "Behavioral evidence for supersensitivity after chronic administration of haloperidol, clozapine and thioridazine". Life Sci. 19: 725-732.
- SNIDER R.S. Y ELRED E. (1952). "Cerebro-cerebellar relationships in the monkey". J. Neurophysiol. 15: 27-40.
- SNYDER S.K.; BANERJEE S.P.; YAMAMURA H.I. Y GREENBERG D. (1974). "Drugs, neurotransmitters and schizophrenia". Science, 184: 1243-1253.
- SOKOLOFF P.; MARTRES M.P. Y SCHWARTZ J.C. (1980). "Three classes of dopamine receptors (D-2, D-3, D-4) identified by binding studies with (³H)-apomorphine and (³H)-domperidone". Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 315: 89-102.
- SPANO P.F.; GOVONI S. Y TRABUCCHI M. (1978). "Studies on the pharmacological properties of dopamine receptors in various areas of the central nervous system". Adv. Biochem. Psychopharmacol. 19: 155-165.
- SQUIRE L.R. Y DAVIS H.P. (1981). "The pharmacology of memory: A neurobiological perspective". Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 21: 323-356.
- STADLER H.; LLOYD K.G.; GADEA-CIRIA M. Y BARTHOLINI G. (1973). "Enhanced striatal acetylcholine release by chlorpromazine and its reversal by apomorphine". Brain Res. 55: 476-480.
- STIMANTOV R.; OSTER-GRANITE M.L.; HERNDON R. Y SNYDER S.H. (1976). "Gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor binding selectively depleted by viral induced granule cell loss in hamster cerebellum". Brain Res. 105: 365-371.
- STOCK G.; STEINBRENNER J. Y KUMMER P. (1980). "Supersensitivity of dopamine-autoreceptors. The effect of gammabutyrolactone in long-term haloperidol treated rats". J. Neural. Transmission, 47: 145-151.
- STORM-MATHISEN J. (1978). "Localization of putative transmitters in the hippocampal formation with a note on the connections to septum and hypothalamus". En: Functions of the Septo-Hippocampal System. Ciaba Foundation Symposium 58 (New Series), pp 49-86. Elsevier/Excerpta Medica/North-Holland, Amsterdam.
- STRAUGHAN D.W.; Mac LEOD N.K.; JAMES T.A. Y KILPATRICK I.C. (1980). "GABA and the nigrothalamic pathway". En: Lal H. (Eds). GABA Neurotransmission: Current Developments in Physiology and Neurochemistry. Brain Res. Bull. 5 (Suppl.2): 7-11.

- STRECKER H.J. (1955). "L-glutamic dehydrogenase from liver". En: Methods in Enzymology. Colowick S.P. y Kaplan N.O. (Eds), 2: 220-225. Academic Press. New York.
- STREIT P. (1980). "Selective retrograde labeling indicating the transmitter of neuronal pathways". J. Comp. Neurol. 191: 429-463.
- SWANSON L.W. y COWAN W.N. (1977). "An autoradiographic study of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat". J. Comp. Neurol. 172: 49-84.
- SWANSON L.W.; WYSS J.M. y COWAN W.M. (1978). "An autoradiographic study of the organization of intrahippocampal association pathways in the rat". J. Comp. Neurol. 181: 681-716.
- TANIYAMA K.; NITSCH C.; WAGNER A. y HASSLER R. (1980). "Aspartate, glutamate and GABA levels in pallidum, substantia nigra, center median and dorsal raphe nuclei after cylindric lesion of caudate nucleus in cat". Neurosci. Lett. 16: 155-160.
- TAPPAZ M.L. y BROWNSTEIN M.J. (1977). "Origin of glutamate-decarboxylase (GAD)-containing cells in discrete hypothalamic nuclei". Brain Res. 132: 95-106.
- TAPPAZ M.L.; BROWNSTEIN M.J. y KOPIN I.J. (1977). "Glutamate decarboxylase (GAD) and γ -aminobutyric acid (GABA) in discrete nuclei of hypothalamus and substantia nigra". Brain Res. 125: 109-121.
- TARSY D. y BALDESSARINI R.J. (1974). "Behavioural supersensitivity to apomorphine following chronic treatment with drugs which interfere with synaptic function of catecholamines". Neuropharmacol. 13: 927-940.
- TASSIN J.P.; REIBAUD M.; BLANC G.; STUDLER J.M. y GLOWINSKI J. (1983). "Non-dopaminergic fibers regulated receptors linked with a DA-sensitive adenylate cyclase (DI) in the prefrontal cortex and the nucleus accumbens of the rat". 5th. CA. Symposium Suppl. to "Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry". Oxford. New York. Frankfurt: Pergamon Press. p 19.
- TASSIN J.P.; STINUS L.; SIMON H.; BLANC G.; THIERRY A.M.; LE MOAL M.; CARDO B. y GLOWINSKI J. (1978). "Relationships between the locomotor hyperactivity induced A10 lesions and destruction of the frontocortical dopaminergic innervation in the rat". Brain Res. 141: 267-281.

- TERRY R.D. Y DAVIES P. (1980). "Dementia of the Alzheimer type". Annu. Rev. Neu-
roscl. 3: 77-95.
- THIERRY A.M.; CHEVALIER G.; FERRON A. Y GLOWINSKI J. (1983). "Diencephalic and
mesencephalic afferents of the medial prefrontal cortex in the rat: Electrophysiological
evidence for the existence of branched axons". Exp. Brain Res. 50:
275-282.
- THYBERG J.; AXELSSON J.E. Y HINEK A. (1977). "In vitro effects of chlorpromazine
on microtubules and the Golgi complex in embrionic chick spinal ganglion cells:
An electrón microscópico study". Brain Res. 137: 323-332.
- TISSARI A.H.; CASU M. Y GESSA G.L. (1979). "Chronic haloperidol: Tolerance to the
stimulating effect on striatal tyrosine hydroxylase". Life Sci. 24: 411-416.
- TOLEDANO A. (1970). "Estudio de algunos sistemas de transporte electrónico enzi-
mático en cerebelo de gato". Trab. Inst. Cajal. C.S.I.C. LXII.
- TOLEDANO A. Y MARTINEZ-RODRIGUEZ R. (1972). "Study of the hydrolisis of acetyl-
and butirylthiocholine in cerebellum of rat, using a new histochemical techni-
que (Menadione-NBT)". Ann. Histochem. 17: 289-304.
- TORU M. Y TAKASHIMA M. (1985). "Haloperidol in large doses redudes the cataleptic
response and increases noradrenaline metabolism in the brain of the rat". Neuro-
pharmacology, 24: 231-236.
- TRABUCCHI M.; CHENEY D.; RACAGNI G. Y COSTA E. (1974). "Involvement of brain cho-
linergic mechanisms in the action of chlorpromazine". Nature, 249: 664-666.
- TREISMAN G.J.; MUIRHEAD N. Y GNEGGY M.E. (1986). "Increase activity of adenylate
cyclase activity in the striatum of the rat to calmodulin and GppNHp after chro-
nic treatment with haloperidol". Neuropharmacology, 25: 587-596.
- TRCINKA G.P.; LIPTON J.M.; HAWKINS M. Y CLARK W.E. (1978). "Differential effects
on temperature of chlorpromazine injected into PO/AH and medulla oblongata of
tha rat". Arch. Int. Pharmacodyn. 232: 111-116.
- TSUTSUMI T.; KOJIMA H.; NARAKU S. Y INANAGA K. (1982). "The short- and long-term
effects of haloperidol on rat central dopamine turnover". Brain Res. 232: 485-
488.

- UNGERSTED U. (1971). "Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain". Acta Physiol. Scand. Suppl. 367: 1-48.
- UNNERSTALL J.R.; PALACIOS J.M. Y KUCHAR M.J. (1981). "Opiate/alpha-2 interactions : co-localization of both receptors by radiohistochemistry". Soc. Neurosci. 7: 501. (Abstr. 161, 5).
- VAN DER BERG C.J. (1970). "Compartmentation of glutamate metabolism". En: The developing brain: experiment with labelled glucose, acetate, phenyl alanine, tyrosine and proline". J. Neurochem. 17: 973-983.
- VAN DER BERG C.J.; KRAYALIC L.J.; MELA P. Y WAELSCH H. (1969). "Compartmentation of glutamate metabolism in brain. Evidence for the existence of two different tricarboxylic acid cycles in brain". Biochem. J. 113: 281-290.
- VAN DER KOOY D. Y HATTORI T. (1980). "Bilaterally situated dorsal raphe cell bodies have only unilateral forebrain projections in rat". Brain Res. 192: 550-554.
- VAN DER KOOY D. Y KUYPERS H.G.J.M. (1979). "Fluorescent retrograde double labeling: Axonal branching in the ascending raphe and nigral projections". Science, 204: 873-875.
- VAN PRAAG H.M. (1977). "The significance of dopamine for the mode of action of neuroleptics and the pathogenesis of schizophrenia". Brit. J. Psychiat. 130: 463-474.
- VON STRALENDORF V.B.; ACKENHEIL M. Y ZIMMERMANN J. (1976). "Akute und chronische wirkung von carpipramin, clozapin, haloperidol, und sulpirid auf den stoffwechsel biogener amine im rattengehirn". Arzneim. Forsch. 26: 1096-1098.
- WALAAS I. (1980). "The localization of neurons probably using amino acids as transmitters". En: Tissot R. (eds). États Déficitaires Cérébraux Liés à l'Age. Symposium Bel-Air VI. Evian, pp 47-82. Georg. Librairie de L'Université. Geneva.
- WALAAS I. (1981). "Biochemical evidence for overlapping neocortical and allocortical glutamate projections to the nucleus accumbens and rostral caudato putamen in the rat brain". Neuroscience, 6:399-405.
- WALAAS I. Y FONNUM F. (1979). "The effect of surgical and chemical lesions on neurotransmitter candidates in the nucleus accumbens of the rat". Neuroscience, 5: 1691-1698.

- WALAAS I. Y FONNUM F. (1980). "Biochemical evidence for glutamate as a transmitter in hippocampal efferents to the basal forebrain and hypothalamus in the rat brain". *Neuroscience*, 5: 1691-1698.
- WALKER J.E. Y FONNUM F. (1983). "Regional cortical glutamatergic and aspartergic projections to the amygdala and thalamus of the rat". *Brain Res.* 267: 371-374.
- WAMSLEY J.K.; LEWIS M.S.; YOUNG W.S.III. Y KUCHAR M.J. (1981a). "Autoradiographic localization of muscarinic cholinergic receptors in rat brainstem". *J. Neurosci.* 1: 176-191.
- WAMSLEY J.K.; ZARBIN M.A.; BIRDSALL N.J.M. Y KUCHAR M.J. (1980). "Muscarinic cholinergic receptors: Autoradiographic localization of high and low affinity agonist binding sites". *Brain Res.* 200: 1-12.
- WAMSLEY J.K.; ZARBIN M.A. Y KUCHAR M.J. (1981b). "Muscarinic cholinergic receptors flow in the sciatic nerve". *Brain Res.* 217: 155-161.
- WAUQUIER A. Y NIEMEGEERS C.J.E. (1975). "The effects of dexetimide on pimozide, haloperidol and pipamperone-induced inhibition of brain self-stimulation in rats". *Arch. Int. Pharmacodyn.* 217: 280-292.
- WAUQUIER A.; NIEMEGEERS C.J.E. Y LAL H. (1975). "Differential antagonism by the anticholinergic dexetimide of inhibitory effects of haloperidol and fentanyl on brain self-stimulation". *Psychopharmacologia*, 41: 229-235.
- WEISS B.; PROZIALECK W.C. Y WALLACE T.L. (1982). "Interaction of drugs with calmodulin. Biochemical and clinical implications". *Biochem. Pharmacol.* 31: 2217-2226.
- WEISS B. Y SANTELLI S. (1978). "Dyskinesias evoked in monkeys by weekly administration of haloperidol". *Science*, 200: 799-801.
- WENK H.; BIGL V. Y MEYER U. (1980). "Cholinergic projections from magnocellular nuclei of the basal forebrain to cortical areas in rats". *Brain Res. Rev.* 2: 295-316.
- WESTERINK B.H.C.; LEJEUNE B.; KORF J. Y VAN PRAAG H.M. (1977). "On the significance of regional dopamine metabolism in the rat brain for the classification of centrally acting drugs". *Europ. J. Pharmacol.* 42: 179-190.

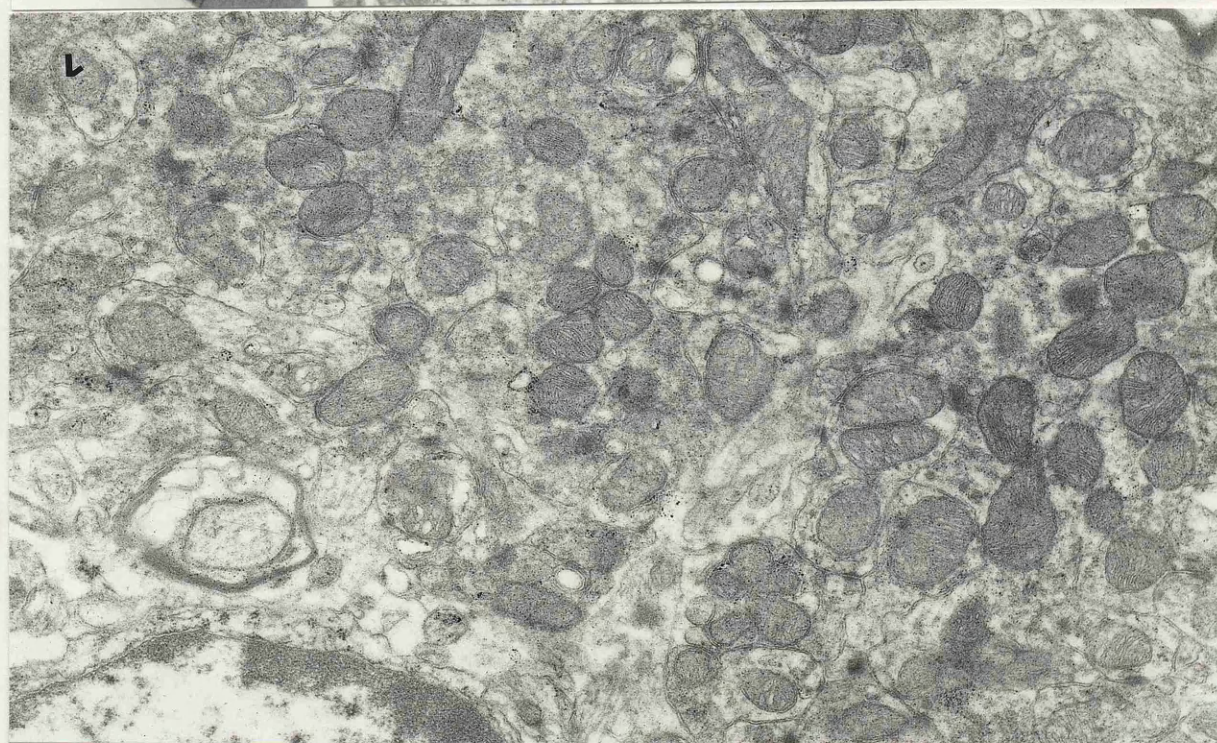
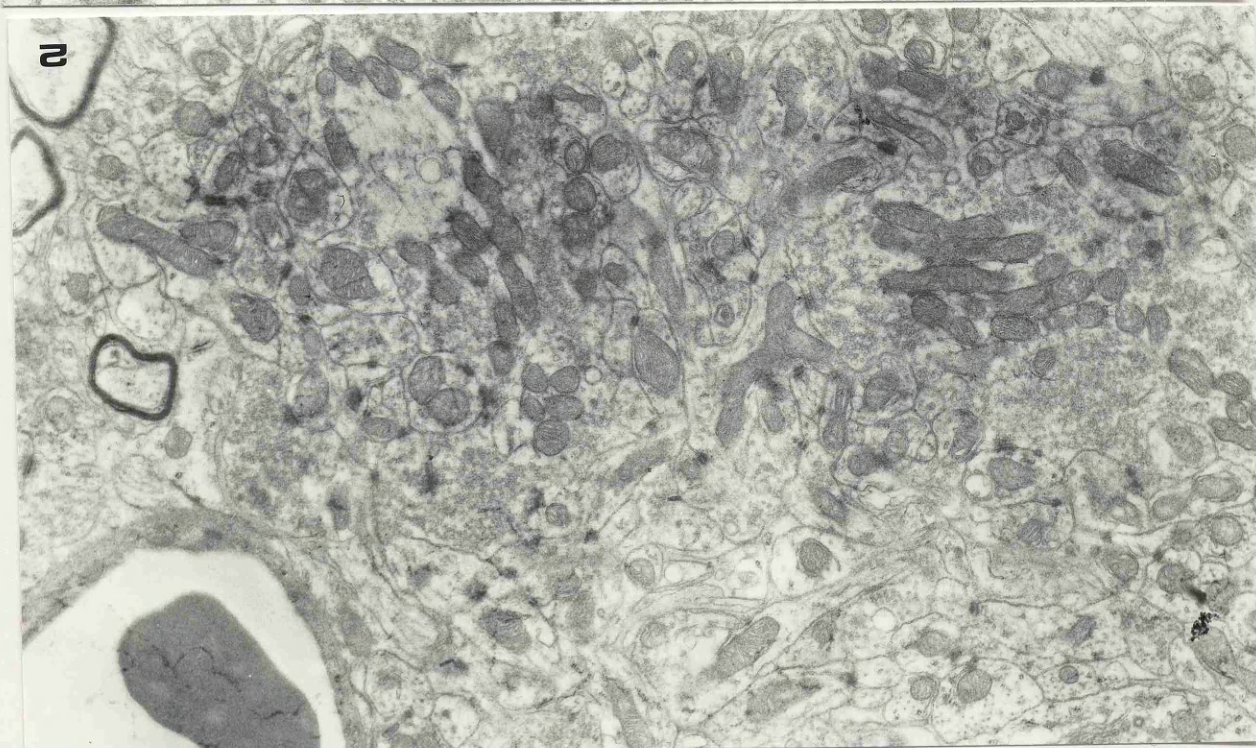
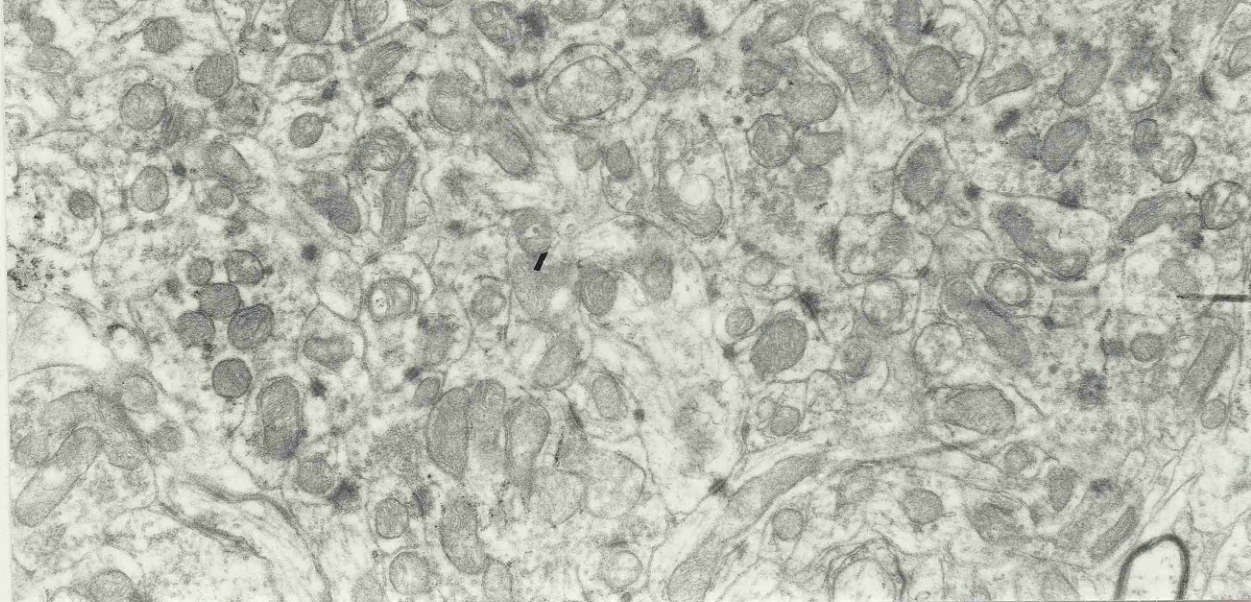
- WHITE W.F.; NADLER J.V.; HAMBERGER A.; COTMAN C.W. Y CUMMINGS J.T. (1977). "Glutamate as transmitter of hippocampal perforant path". *Nature*, (London); 270: 356-357.
- WHITE F.J. Y WANG R.Y. (1982). "Comparison of the effects of chronic haloperidol treatment on A9 and A10 dopamine neurons in the rat ". *Life Sci.* 32: 983-993.
- WHITEHOUSE P.J.; PRICE D.L.; CLARK A.W.; COYLE J.T. Y DE LONG M.R. (1981). "Alzheimer disease: Evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis". *Ann. Neurol.* 10: 122-126.
- WIESEL F.A.; ALFREDSSON G.; LIKWORNIK V. Y SEDVALLG. (1975). "A relation between drug concentrations in brain and striatal homovanillic acid levels in chlorpromazine treated rats". *Life Sci.* 16: 1145-1156.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION: "Research in Psychopharmacology: Report of a WHO Scientific Group". *Wld. Hlth. Org. Techn. Re. Ser.*, 371. (1967).
- YAMAMOTO C. Y MATSUI S. (1976). "Effect of stimulation of excitatory nerve tract on release of glutamic acid from olfactory cortex slices in vitro". *J. Neurochem.* 26: 487-491.
- YATES C.M. Y WILSON H. (1976). "Effect of chlorpromazine and acetylsalicylic acid in vivo on lysosomal enzymes in rat brain". *Brain Res.* 110: 425-429.
- YOUNG A.B.; BROMBERG M.B. Y PENNEY J.B.Jr. (1981). "Decreased glutamate uptake in subcortical areas deafferented by sensorimotor cortical ablation in the cat". *J. Neurosci.* 1: 241-249.
- YOUNG W.S. I.I.I. Y KUCHAR M.J. (1980). "Noradrenergic alpha-1 and alpha-2 receptors: Light microscopic autoradiographic localization". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77: 1696-1700.
- YOUNG A.B.; OSTER-GRANITE M.L.; HERNDON R.M. Y SNYDER S.H. (1974). "Glutamic acid: selective depletion by viral induced granule cell loss in hamster cerebellum". *Brain Res.* 73: 1-13.
- ZARBIN M.A.; WAMSLEY J.K. Y KUCHAR M.T. (1982). "Axonal transport of muscarinic cholinergic receptors in rat vagus nerve: high and low affinity agonist receptors move in opposite directions and differ in nucleotide sensitivity". *J. Neurosci.* 2: 934-941.

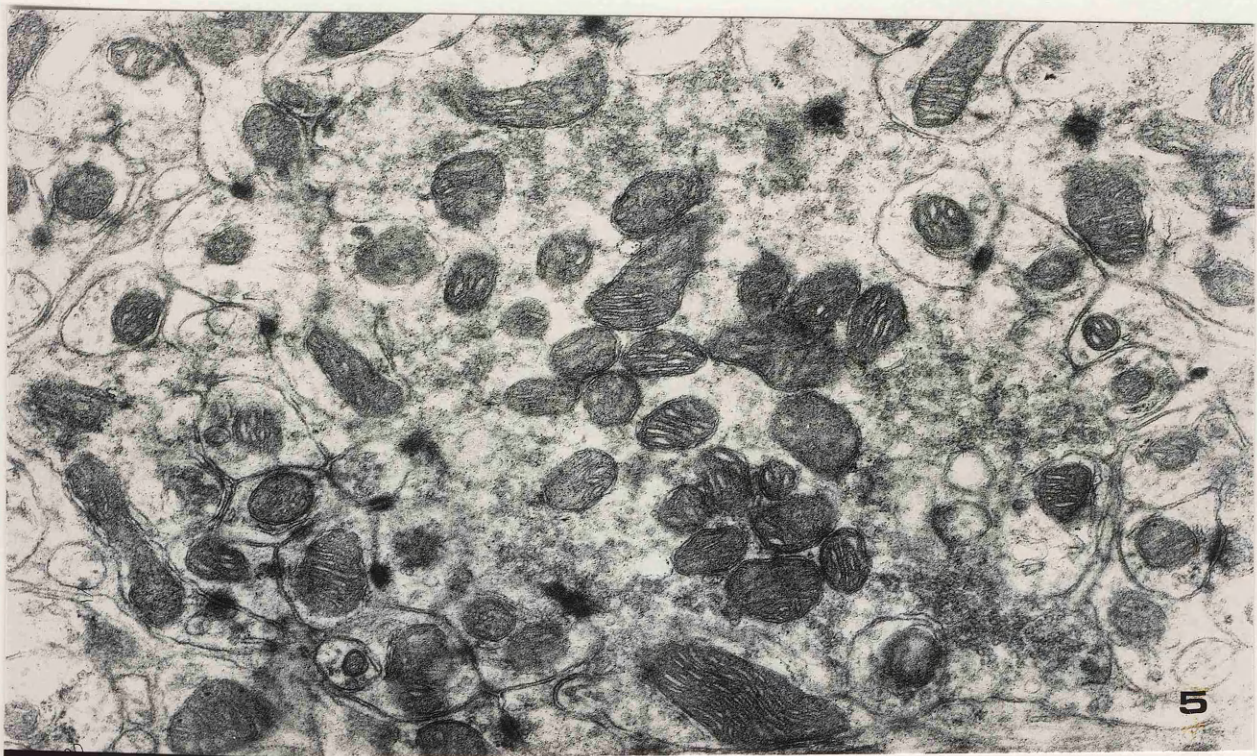
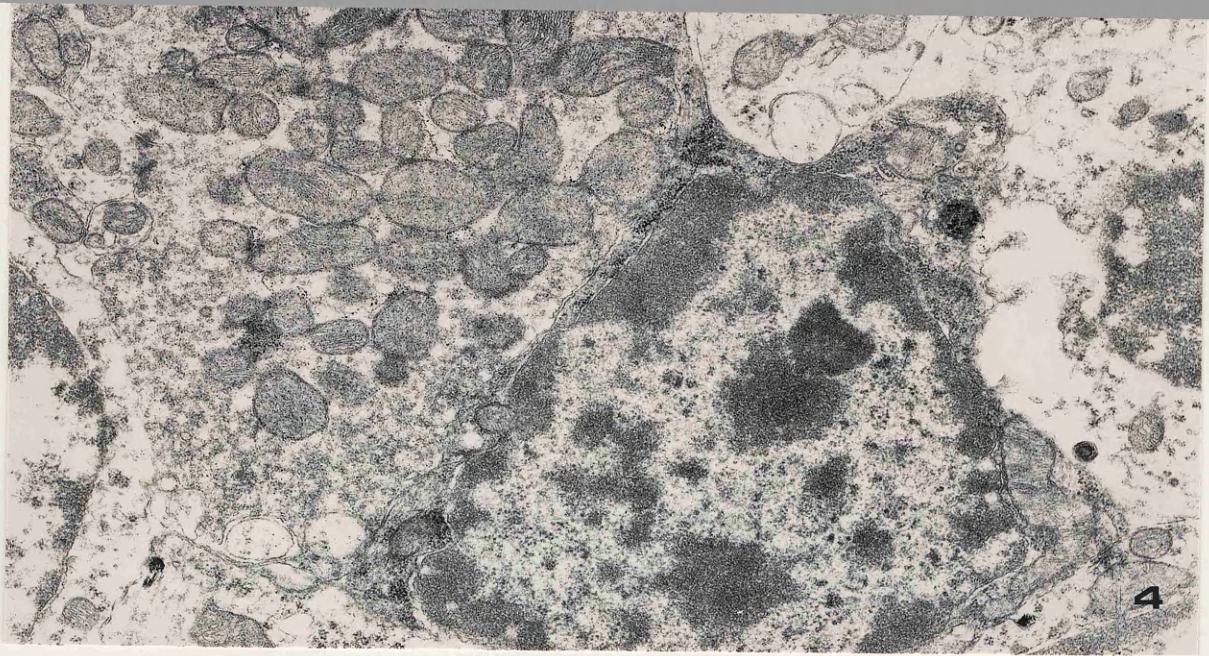
- ZIS A.P. Y GOODWIN F.K. (1982). "The amine hypothesis". En: Paykel E.S. (Ed).
Handbook of Affective Disorders. Guilford Press. New York.

- ZIVKOVIC B.; GUIDOTTI A. Y COSTA E. (1974). "Effects of neuroleptics on striatal
tyrosine hydroxylase: Changes in affinity for the Pteridine cofactor". Mol. Phar
macol. 10: 727-735.

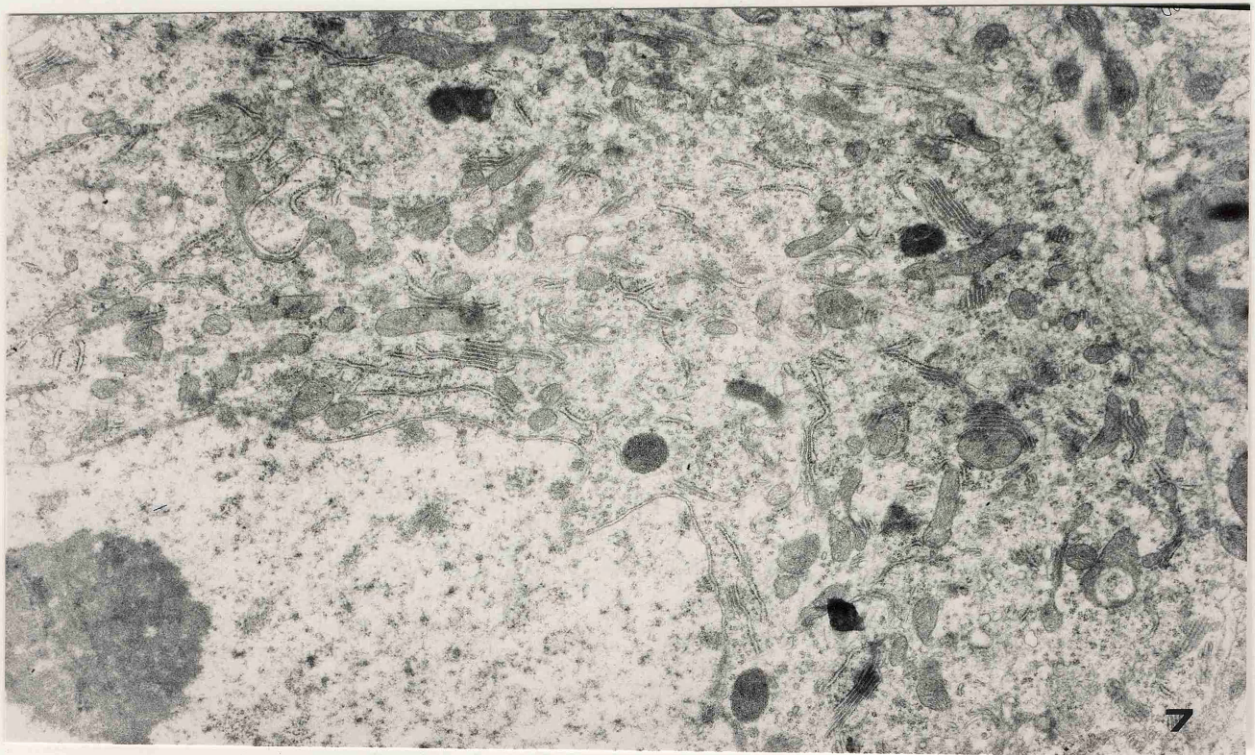
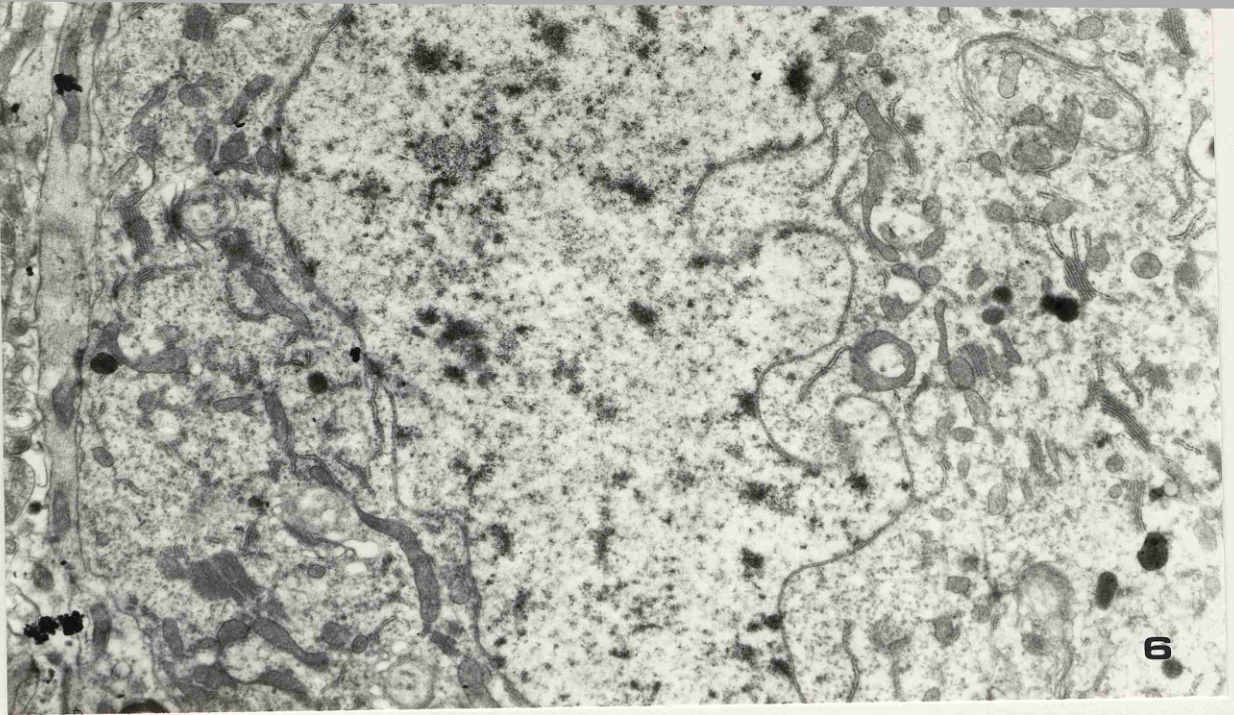
- ZIVKOVIC B.; GUIDOTTI A.; REVUELTA A. Y COSTA E. (1975). "Effects of thioridazi-
ne, clozapine and the other antipsychotics on the kinetic state of tyrosine hy-
droxylase and on the turnover rate of dopamine in striatum and nucleus accumbens".
J. Pharmacol. Exp. Ther. 194: 37-46.

10.- FOTOGRAFIAS
=====

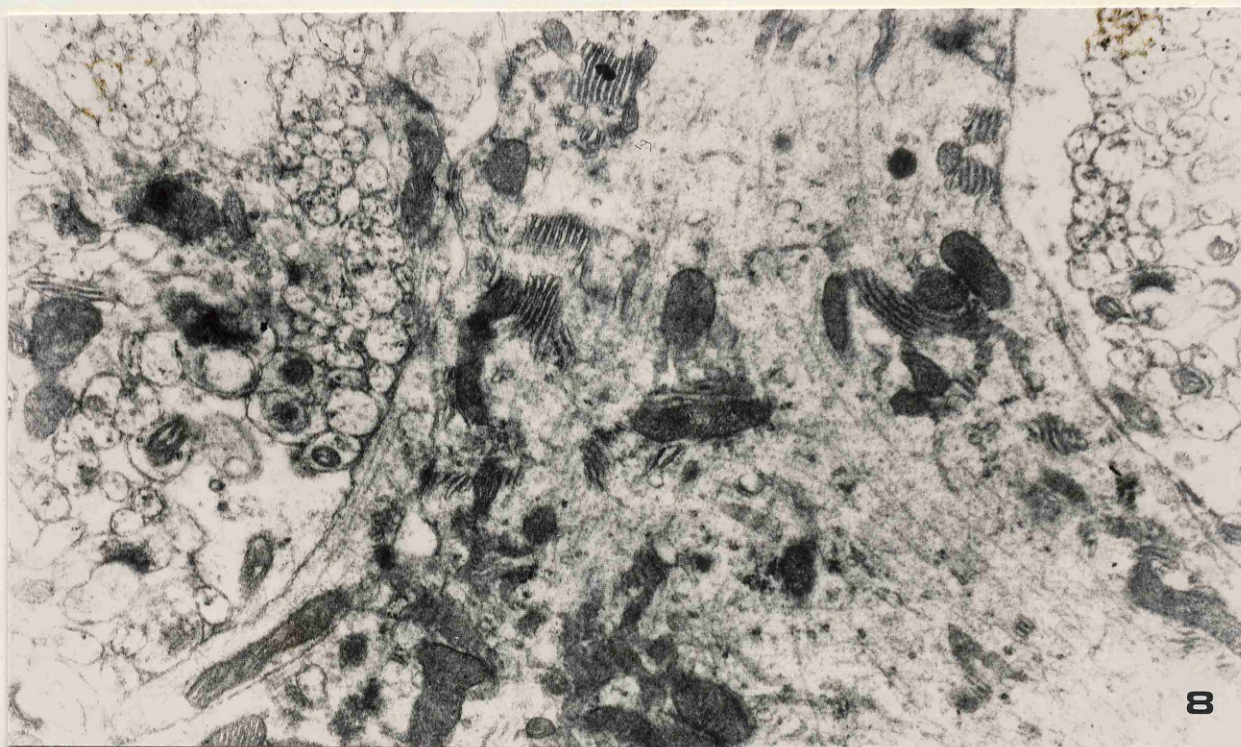




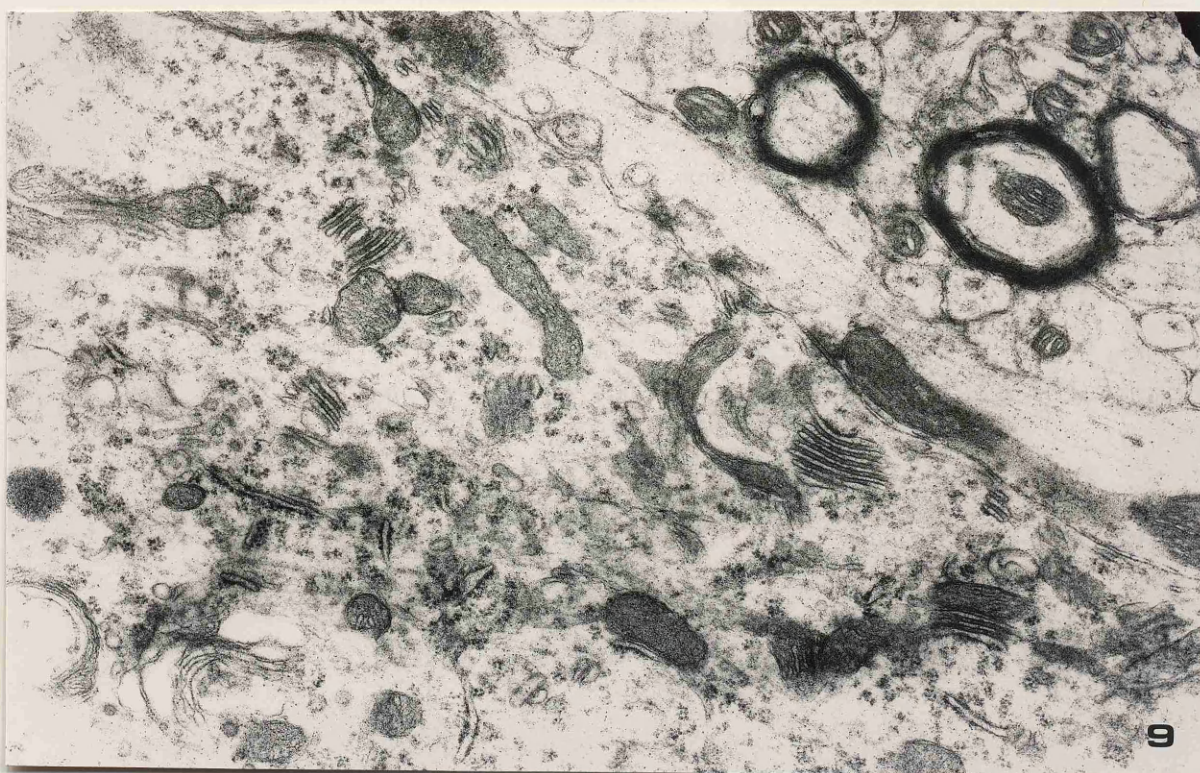
FOTOS 4 y 5.- Corteza cerebelosa de rata tratada con HAL durante 6 meses (4) y 3 meses (5). Glomerulos cerebelosos con hipertrofia de las fibras musgosas y disminución del número de dendritas. (4: x20.000 y 5: x30.000).



FOTOS 6 y 7.- Corteza cerebelosa de rata tratada durante 3 meses con CPZ (6) y durante 6 meses con HAL (7). Celulas de Purkinje que presentan tendencia a la hipertrofia con apariencia de invaginaciones en el núcleo, hipertrófia de sistemas subcisternales y gránulos de lipofuscina (6: x12.000 y 7: x12.000)



8



9

FOTOS 8 y 9.- Corteza cerebelosa de rata tratada durante 3 meses con CPZ. Hipertrófia de sistemas subcisternales en soma y tronco dendrítico de neuronas de Purkinje. (8: x20.000 y 9: x30.000).



FOTO 10.- Corteza cerebelosa de rata tratada durante 6 meses con HAL. Hipertrófia de terminales de axones de los cestos sobre el polo basal de neurona de Purkinje (x30.000).